

Über die Synthese von Oktaessigsäureporphyrin
und sein Verhalten in mehrphasigen Systemen,
insbesondere Vesikellösungen

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Chemie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Ursula Meding-Angrick
aus Holzhausen

1. Referent: Prof. Dr. J.-H. Fuhrhop

2. Referent: Prof. Dr. W. Broser

Tag der mündlichen Prüfung: 29. Juni 1983

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Dezember 1978 bis April 1983 im Institut für Organische Chemie der Freien Universität Berlin unter der Leitung von Herrn Professor Dr. J.-H. Fuhrhop angefertigt.

Herrn Professor Dr. J.-H. Fuhrhop gilt mein Dank für die vielfältigen Anregungen, seine stete Diskussionsbereitschaft und die zahlreichen wertvollen Hinweise, die für die Entwicklung und das Gelingen dieser Arbeit sehr förderlich waren.

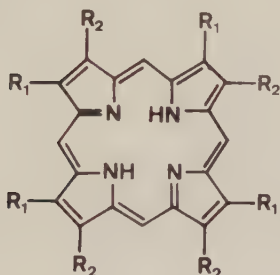
Michael
und
Fabian
gewidmet

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	Seite
1. Einleitung und Aufgabenstellung	1
2. Über die Synthese von Oktaessigsäureporphyrin (4) sowie möglicher Nebenprodukte	6
2.1. Einleitung	6
2.2. Erster Weg zum Oktaessigsäureporphyrin (4)	8
2.3. Zweiter Weg zum Oktaessigsäureporphyrin (4)	13
2.4. Pyrromethan	15
2.5. Pyrromethen	18
2.6. Dritter Weg zum Oktaessigsäureporphyrin (4)	20
3. Untersuchungen zur Reaktivität des Oktaessigsäureporphyrin-oktamethylesters (25)	22
3.1. Darstellung des Zinkkomplexes (45)	22
3.2. Bromierung	22
3.3. Erzeugung des Anions (45)	25
3.4. Radikalerzeugung	27
3.5. Versuch der Bildung eines isozyklischen Ringes am Oktaessigsäureporphyrin-oktamethylester (25)	29
4. Vorversuche und erste Untersuchungen über das Verhalten von Oktaessigsäureporphyrin (4) in Mehrphasensystemen	31
4.1. Hydrolyse des Oktaessigsäureporphyrin-oktamethylesters (25) und seines Zinkkomplexes (45)	31
4.2. Vergleich der Elektronenspektren bei verschiedenen pH-Werten	31
4.3. Phasentransfer	36
4.4. Titration von Oktaessigsäureporphyrin (4) in micellarer Lösung	37
4.5. Über das Verhalten des Porphyrins (4) in Vesikellösungen mit positiven Kopfgruppen	38
4.6. Über das Verhalten des Porphyrins (4) in einer Vesikellösung mit negativen Kopfgruppen	40

4.6.1.	Interpretation des Titrationsergebnisses	43
4.6.2.	Versuch des chromatographischen Nachweises	45
4.7.	Versuchte Anreicherung des Porphyrins (<u>4</u>) im Innenvolumen der Vesikel	46
5.	Zusammenfassung	52
6.	Experimenteller Teil	56
6.1.	Erster Weg zum Porphyrin	57
6.2.	Zweiter Weg zum Porphyrin	66
6.3.	Pyrromethane	70
6.4.	Pyrromethen	72
6.5.	Dritter Weg zum Porphyrin	74
6.6.	Versuche zur Reaktivität des Oktaessig- säureporphyrin-oktamethylesters (<u>25</u>)	75
6.7.	Vorversuche und erste Untersuchungen über das Verhalten von Oktaessigsäureporphy- rin (<u>4</u>) in Mehrphasensystemen	78
7.	Literaturverzeichnis	90

1. Einleitung und Aufgabenstellung

Das Grundgerüst der Porphyrine ¹⁾ besteht aus einem Makrozyklus, der aus vier über Methinbrücken verknüpften Pyrrolringen aufgebaut ist. Das einfachste Porphyrin ist das Porphin (1) (s. Abbildung 1).



(1) Porphin $R_1=R_2=H$

(2) Uroporphyrin III $R_1=CH_2COOH$ $R_2=CH_2CH_2COOH$

(3) Coproporphyrin III $R_1=CH_3$ $R_2=CH_2CH_2COOH$

(4) Oktaessigsäureporphyrin $R_1=R_2=CH_2COOH$

Abb. 1: Grundgerüst der Porphyrine

Andere Porphyrine leiten sich formal durch Substitution der Wasserstoffatome aus dem Porphin ab.

Charakteristisch für diese Substanzklasse sind ihre Elektrospektren ²⁾. Bei etwa 400 nm erscheint eine sehr intensive Bande, die sogenannte Soret-Bande und im sichtbaren Bereich befinden sich vier weniger intensive Banden, die beginnend mit der längstwelligen Bande mit römischen Zahlen durchnummeriert werden (vgl. Abbildung 2).



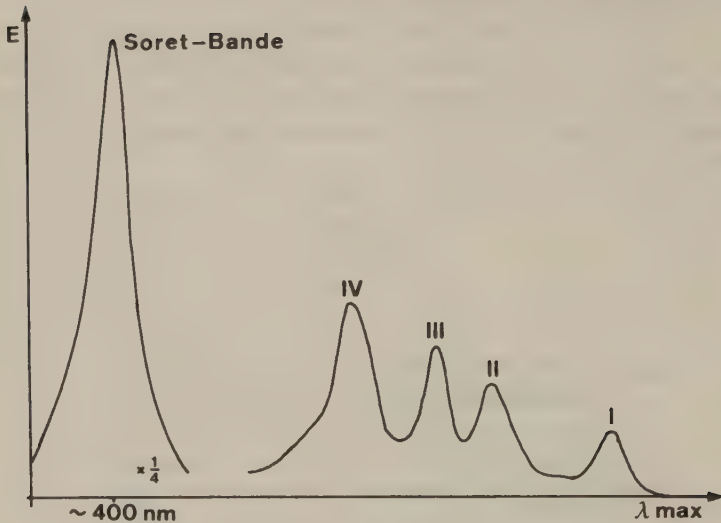


Abb. 2: typisches Elektronenspektrum der Porphyrine

Porphyrine sind in Form ihrer Metallkomplexe in der Natur weit verbreitet. Sie bilden als biochemisch wichtige Naturfarbstoffe u.a. die Farbkomponenten des Blutes (Häm) und des Blattgrüns (Chlorophyll) ³⁾. Eisenkomplexe des Porphyrins befähigen die höheren Organismen sowohl zum Sauerstofftransport und Oxidation von Substraten ⁴⁾, als auch in den Cytochromen zum Elektronentransfer durch Membranen (Atmungskette) ⁵⁾. In diesen biochemischen Systemen sind die Porphyrine als Hämoproteine oder Chlorophyll-Proteinkomplex fest in die Membran eingebaut.

Uns interessiert die Wechselwirkung von wasserlöslichen Porphyrinen mit synthetischen Membranen. Es sollten erste Untersuchungen über ein vollsynthetisches, wasserlösliches Porphyrin in vesikulärer Lösung gemacht werden.

Vesikel ⁶⁾ sind wassergefüllte Bläschen mit mono- oder bimole-

kularen Membranen (je nach Struktur des Vesikelbildners), deren Struktur grob dem Aufbau von biologischen Zellmembranen ohne Proteine entspricht. Während das Innere der Micellen unpolar ist, ist das der Vesikel wäßrig.

Zur Herstellung der Vesikel werden die Moleküle, bestehend aus langen unpolaren Ketten mit polaren Kopfgruppen, in einer Elektrolytlösung aufgequollen und durch mechanisches Rühren oder durch Ultraschall in Lösung gebracht. Erstere Methode ergibt Vesikel von 50-500 nm Durchmesser mit mehreren zwiebelschalartigen Schichten, während die zweite Methode zu kleinen Bläschen führt mit bimolekularer Schicht von ungefähr 30 nm Außendurchmesser.

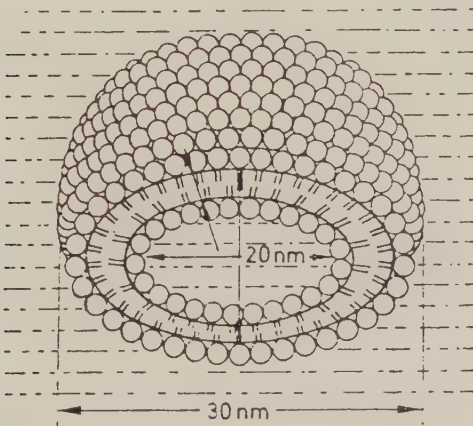


Abb. 3: Aufbau von Vesikeln

Im Gegensatz zu Micellen sind Vesikel tagelang stabil, was vor allem auf der geringen Löslichkeit der Membranbildner im Wasser (niedrige CMC) beruht.

In Vesikellösungen lassen sich neun Regionen unterscheiden (vgl. Abbildung 4).

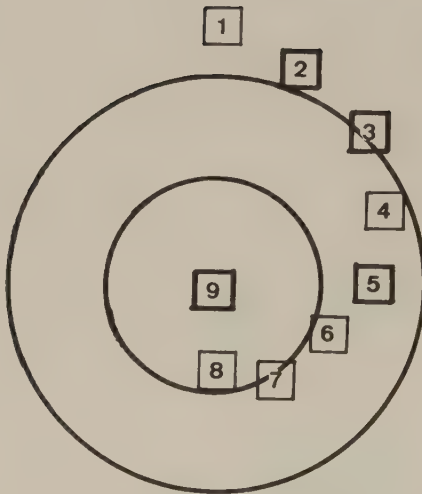


Abb. 4: Die neun Regionen in Vesikellösungen

- 1 und 9: Wasserphasen (außen und innen)
- 2 und 8: Hydrathüllen der Kopfgruppen
- 3 und 7: Kopfgruppen
- 4 und 6: hydrophobe Umgebung der Kopfgruppen
- 5: hydrophobes Membraninneres

In welcher Region sich eine zugesetzte Fremdschubstanz befindet, bzw. einbringen läßt, hängt in erster Linie von ihrer Struktur und Polarität ab. Für eine mögliche Anwendung von Vesikeln zum Aufbau komplexer Systeme, z.B. für den organselktiven Pharmakontransport ⁷⁾ oder die lichtinduzierte Ladungstrennung ist es von Interesse, Substanzen gezielt in jede der neun Regionen einbringen zu können.

Die erste Aufgabe im Rahmen dieser Arbeit bestand in der Darstellung eines wasserlöslichen Porphyrins. Die biologischen Vorbilder hierfür sind Uroporphyrin III (2 in Abbildung 1) und Coproporphyrin III (3), beides Vorstufen ⁸⁾ des Protoporphyrins, der Farbkomponente des Blutes. Wenn die beiden Substituenten

in den β -Positionen des zur Zyklisierung eingesetzten Pyrrols unterschiedlich sind, dann können vier Porphyrinisomere entstehen. Einfacher und für unsere Untersuchungen ausreichend ist es, ein symmetrisches Porphyrin zu synthetisieren. Wir entschieden uns für Oktaessigsäureporphyrin (4 in Abbildung 1).

Außer der Wechselwirkung mit Vesikeln sollten auch erste Untersuchungen über die Reaktionsmöglichkeiten des Esters dieses Moleküls angestellt werden.

Die erste Arbeit von Rapoport und Mitarbeitern ⁹⁾ geht von 2-Chlor-4-methyl-5-nitropyridin als Ausgangssubstanz (Abb.5) über elf Stufen. Die zweite Synthese erfolgte 1976 von Franck und Mitarbeitern ^{10,11)} über zehn Stufen (Abb.6).

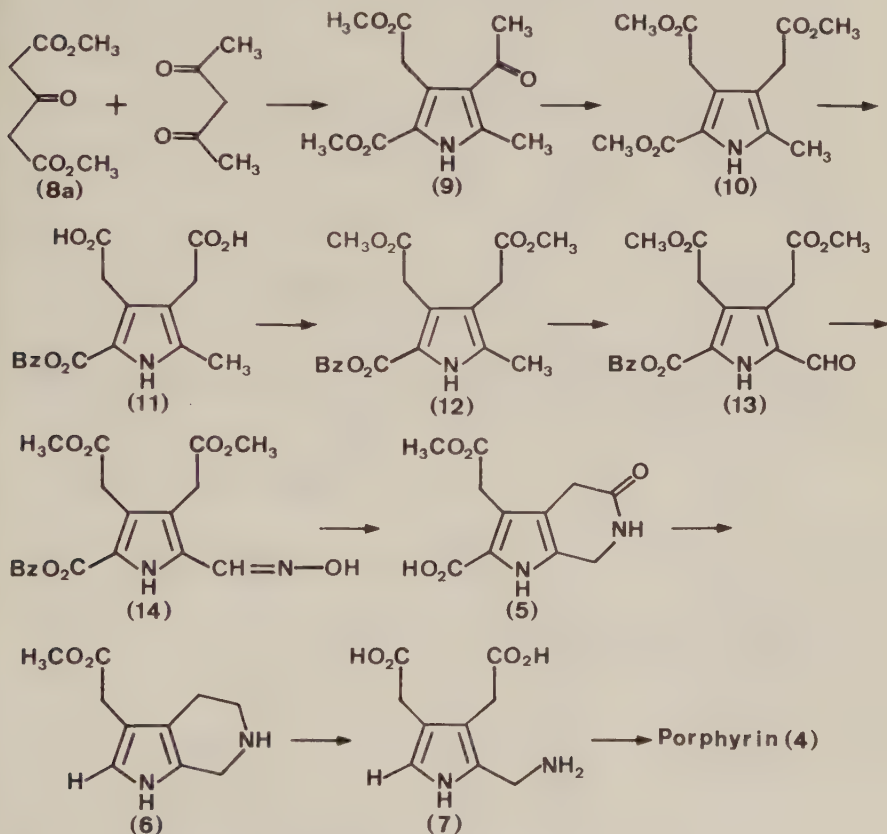


Abb.6: Syntheseweg zu Oktaessigsäureporphyrin (4) (1976) ¹¹⁾

Beide Arbeitsgruppen stellten zunächst das 5-Carboxyl-2,3-lactam (5) her, um das Pyrrol in neutralem oder saurem Medium in der Position 5 decarboxylieren zu können, ohne daß bereits die Zyklisierung zum Porphyrin einsetzt. Nach alkalischer Hydrolyse gewinnen sie ein Pyrrol (7), das dem Porphobilinogen, dem Ausgangsmolekül der biochemischen Uroporphyrinsynthese ¹²⁾ analog ist.

2.2 Erster Weg zum Oktaessigsäureporphyrin (4)

Wenn es einem nicht auf den "biomimetischen" Aspekt der Porphyrinsynthese ankommt, ist ein kürzerer Weg denkbar, z.B. analog zur Synthese des Oktaethylporphyrins ¹³⁾ (Abb. 9). Als billige Ausgangssubstanz für die Synthese des hierfür benötigten Pyrrols (10) wurde Citronensäure (15) gewählt, aus der man nach einer Patentvorschrift von Boehringer ¹⁴⁾ den Acetondicarbonylsäuredimethylester (17) in 80% Ausbeute herstellen kann (Abb. 7). Die Citronensäure reagiert mit Chlorsulfonsäure unter Abspaltung von drei Äquivalenten Chlorwasserstoff und einem Äquivalent Kohlenmonoxid.

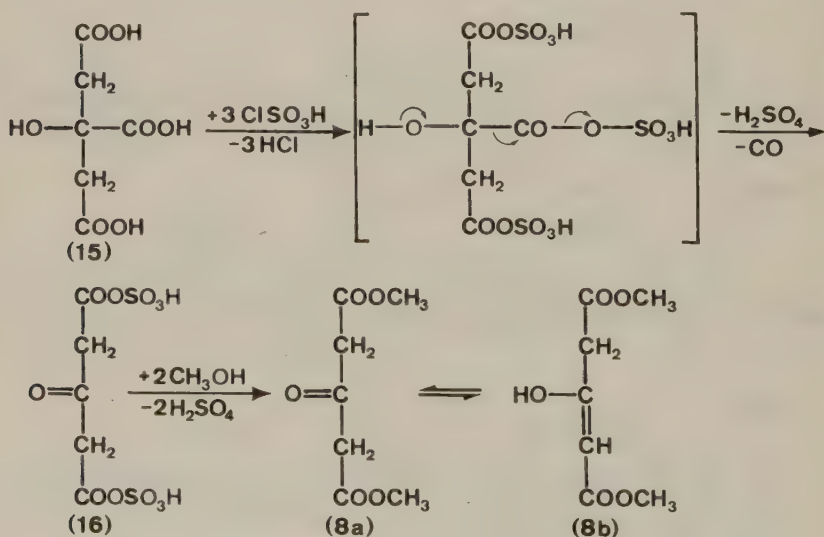


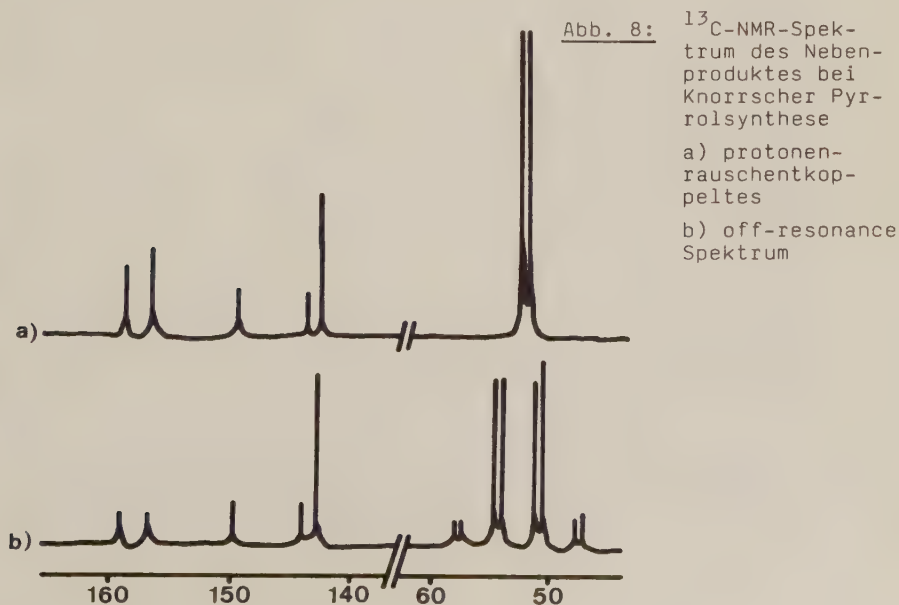
Abb. 7: Schematische Darstellung der Reaktion von Citronensäure (15) zu Acetondicarbonylsäuredimethylester (8a)

Das Produkt (16) läßt sich auch durch Reaktion der Citronensäure mit Oleum erhalten ¹⁵⁾, aber der Vorteil der Verwendung von Chlorsulfonsäure liegt darin, daß sich das Reaktionsgemisch abkühlt, während es sich bei der Verwendung von Oleum stark erwärmt. Die Acetondicarbonylsäure kann durch Zugabe von Methanol ohne Aufarbeitung verestert werden. Sofort nach der De-

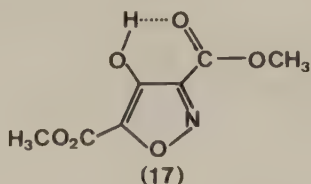
stillation begann sich das Keto-Enol-Gleichgewicht (8a $\rightleftharpoons$ 8b, in Abb. 7) einzustellen ¹⁶⁾, was auch an dem sich ändernden Brechungsindex abzulesen war. Das ¹H-NMR-Spektrum (Lösungsmittel Tetrachlorkohlenstoff) zeigt beide Tautomere im Verhältnis eins zu zwei zu Gunsten des Acetondicarbonsäuredimethylesters. Das Proton der Hydroxylgruppe des Enol-Tautomeren (8b) taucht im Spektrum nicht auf.

Die beiden nächsten Stufen wurden weitgehend analog zu den von Wegner ¹¹⁾ beschriebenen und in Abbildung 6 dargestellten ersten beiden Reaktionen durchgeführt.

Bei der Knorr'schen Pyrrolsynthese war nach Zutropfen des Isopentylnitrits zum Acetondicarbonsäuredimethylester (8a) bisweilen ein weißer, nadelförmiger Niederschlag zu beobachten, dessen Entstehung von der Bildung nitroser Gase begleitet war. Die Molmasse der Substanz beträgt 201, zwei Masseneinheiten weniger als das als Hauptprodukt entstandene Oxim. Die Summenformel beträgt demnach $C_7H_7NO_6$, was auch durch die Elementaranalyse gestützt wird. Dem off-resonance-¹³C-Spektrum war zu entnehmen, daß das Molekül fünf tertiäre und zwei primäre Kohlenstoffatome besitzt.



Das ^1H -NMR-Spektrum umfaßt nur zwei Signale bei 3,95 und 4,00 ppm, die durch Vergleich mit der Ausgangsverbindung Acetondicarbonsäuredimethylester eindeutig den Methylestergruppen zugeordnet werden können. Für das noch fehlende Proton findet sich der Hinweis im IR-Spektrum. Die Bande bei 3380 cm^{-1} deutet auf assoziierte Hydroxylgruppen hin, so daß es sich bei der Nebensubstanz um 4-Hydroxyisoxazol-3,5-dicarbonsäuredimethylester (17) handeln muß:



Warum die Substanz bei einigen Umsetzungen anfiel, manchmal jedoch nicht, konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht näher untersucht werden.

Die Ausbeute der Knorr'schen Pyrrolsynthese, bei der das Oxim mit Acetylaceton umgesetzt wurde, schwankte beträchtlich (20-40%). Das entstandene Acetylpyrrol (9) wurde mittels Thallium III-nitrat einer oxidativen Umlagerung unterworfen, wobei die Acetyl- in eine Essigsäuregruppe umgewandelt wird. Die Methode geht auf Taylor und McKillop ¹⁷⁾ zurück und wurde von Kenner zum ersten Mal in der Pyrrolchemie eingesetzt ¹⁸⁾. In dieser Arbeit wurde nach einer Vorschrift von Kenner ¹⁹⁾ gearbeitet, der das Trihydrat des Thalliumsalzes verwendete, während Wegner ¹¹⁾ das wasserfreie Thallium III -nitrat benutzte und von nicht vollständiger Umsetzung berichtete. Eine Nacharbeitung seiner Vorschrift ergab ein 1:1 Gemisch von Produkt (10) und Edukt (9). Die Umsetzung nach der Methode von Kenner hingegen verläuft glatt zum gewünschten Produkt. Die nächsten drei Stufen wurden analog zu der von Inhoffen und Mitarbeitern ¹³⁾ beschriebenen Vorschrift zur Darstellung von Oktaethylporphyrin (21) synthetisiert. In der Originalvorschrift reagiert das α -Methylpyrrol (18) bei Raumtemperatur innerhalb von zwei Stunden in sehr guter Ausbeute mit Bleitetraacetat zum Acetoxymethylpyrrol (19).

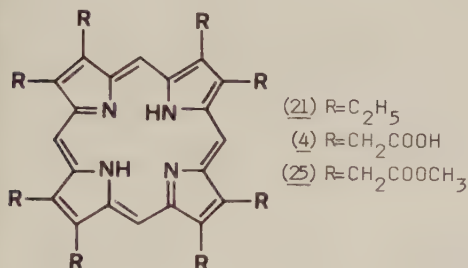
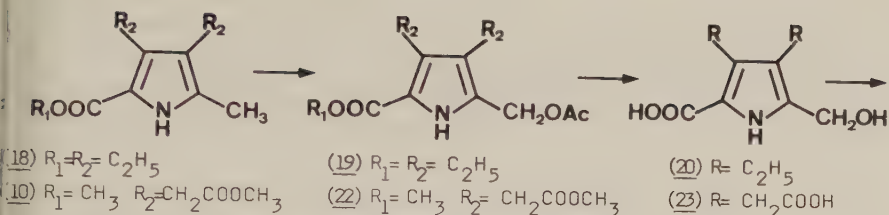


Abb.9: Reaktionsfolge zur Bildung von Oktaethylporphyrin (21) bzw. Oktaessigsäureporphyrin (4)

Bei der Umsetzung der analogen Verbindung (10) dagegen findet unter den gleichen Reaktionsbedingungen keine Reaktion statt. Offensichtlich erschweren die elektronenziehenden Substituenten die Reaktion. Erst bei drastischeren Reaktionsbedingungen (100 statt 20°C) erhält man befriedigende Ausbeuten.

Nach der Hydrolyse des Pyrrols (22) stellte sich heraus, daß sich das Tricarbonsäurepyrrol (23) mit Salzsäure nicht aus wäßriger Lösung ausfällen läßt. Es mußte deshalb auf die Isolierung der Substanz verzichtet werden

Als großer Nachteil erwies sich unter diesen Umständen der große Überschuß an Kaliumhydroxid in der methanolischen Lösung, der als Salz in die nächste Stufe gelangte und hier Schwierigkeiten bei der Aufarbeitung bereitete.

Als Variante dieser Reaktion wurde deshalb das von Wegner¹¹⁾ benutzte Verfahren verwendet: Hydrolyse in kleinem Volumen halbkonzentrierter Kalilauge (leichter Überschuß), Neutralisation und anschließende Gefriertrocknung.

Auch die nächste Reaktion ließ sich nicht problemlos auf das polarere Pyrrol (23) übertragen. Bei der Synthese von Oktaethylporphyrin wird das α -Carbonsäurepyrrol (20) in Eisessig/Kaliumhexacyanoferrat erst decarboxyliert, dann tetramerisiert und oxidiert. Das Produkt (21) ist unpolar und fällt aus. Bei der analogen Reaktion mit dem Pyrrol (23) ist das entstandene Porphyrin (4) durch die Säuregruppen in den β -pyrrolischen Positionen in dem Reaktionsgemisch löslich, so daß in diesem Fall das Lösungsmittel (Eisessig) destillativ entfernt werden mußte. Es wurde versucht, das Oktaessigsäureporphyrin (4) durch Umfällung, d.h. Lösen in 2M Kalilauge und Ausfällen mit 2M Salzsäure, zu reinigen. Wie anhand der Anfertigung von quantitativen Elektronenspektren festzustellen war (die Extinktionswerte wurden nicht höher), führte dieser Weg nicht zum Erfolg.

Um das Porphyrin (4) isolieren und reinigen zu können, mußte der Umweg über den Ester genommen werden. Der in dem Veresterungsgemisch Methanol/Schwefelsäure hergestellte Oktamethylester (25) konnte nach Säulenchromatographie an Aluminiumoxid und Umkristallisation aus Chloroform/Methanol rein dargestellt werden. Die Ausbeute bei der beschriebenen Reaktionsführung war aber unbefriedigend (5% bezogen auf 22).

Als Hauptprodukt der Zyklisierung wurde eine Substanz erhalten, die im sauren Milieu, je nach pH-Wert, eine scharfe Bande zwischen 480 und 500 nm hat. Im neutralen und alkalischen pH-Bereich dagegen hat sie eine breite Bande von geringerer Intensität bei 460 nm. Die geringe Ausbeute läßt sich auf mehrere mögliche Ursachen zurückführen:

1. Die Hydrolyse des Pyrrols (22) verläuft nicht vollständig.
2. Die Decarboxylierung des Pyrrols (23) wird unter den gegebenen Reaktionsbedingungen nur mit geringer Ausbeute erreicht.
3. Wegner¹¹⁾ beobachtete sowohl bei der Hydrolyse, als auch bei der Decarboxylierung die Bildung von Nebenprodukten, die bei der obigen Reaktionsführung nicht abgetrennt werden konnte und somit die Ausbeute bei der Zyklisierung erheblich herabsetzen könnte.

Die Variationen an Reaktionsfolgen, die unternommen wurden, um höhere Ausbeuten zu erhalten, sollen an dieser Stelle nicht beschrieben werden. Sie sind der Tabelle 1 des Experimentellen Teils zu entnehmen (S. Seite 65).

2.3. Zweiter Weg zum Oktaessigsäureporphyrin (4)

Nach vielen vergeblichen Bemühungen war klar, daß der Umweg über das α -Benzyloxycarbonylpyrrol (12), aus dem unter milden Bedingungen das α -Carbonsäurepyrrol (27) erhalten werden kann, unvermeidlich ist. Gerade zu dieser Zeit erschienen die Arbeiten von B. Franck und Mitarbeitern^{20,21}, in denen dieser Weg beschrieben wurde.

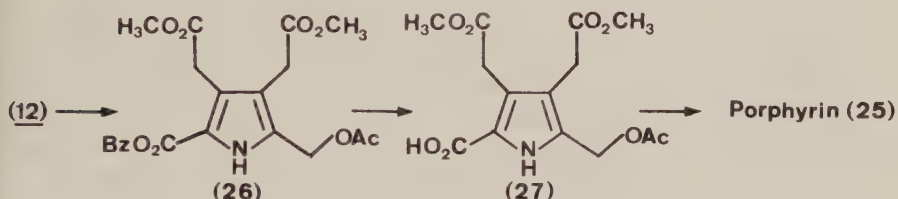


Abb. 10: Syntheseweg zum Oktaessigsäureporphyrin-oktamethylester (25) über α -Benzylester- α -acetoxyethylpyrrol (26)

Die in Abbildung 10 angegebenen Stufen wurden synthetisiert. Der Pyrroltricarbonsäure-trimethylester (10) wurde in Benzylalkohol/Benzylat-Überschuß umgeestert. Bei langsamer Neutralisation erhält man das Benzyloxycarbonyldicarbonsäurepyrrol (11), da die β -pyrrolischen Estergruppen wesentlich instabiler sind. Bei zu schneller Neutralisation läßt sich allerdings aus der etherischen Phase der Pyrroltricarbonsäure-tribenzylester isolieren. Alle möglichen Produkte können mittels Methanol mit 10% Chlorwasserstoff durch Ver- bzw. Umesterung in die Monobenzyldimethylester-Verbindung (12) überführt werden. Auch mit Methanol/3proz. Schwefelsäure als Veresterungsreagenz konnten die gleichen Ergebnisse erzielt werden. In einer zum ersten

Schritt der Reaktionsfolge in Abbildung 9 analog durchgeführten Umsetzung mit Bleitetraacetat ließ sich die reaktive Acetoxygruppe einführen (Verbindung 26). Das auffällige an den Acetoxymethylpyrrolen (22 und 26) war, daß die Substanzen unter dem Mikroskop betrachtet, sowohl amorphe als auch kristalline Anteile besitzen. Der amorphe Anteil schmilzt innerhalb eines größeren Temperaturbereichs, während der kristalline Anteil scharf zuletzt schmilzt. Die ^1H -NMR-Spektren der Acetoxymethylpyrrole (22 und 26) lassen aber nicht auf Substanzgemische schließen. Dieses Problem wird im folgenden Kapitel aufgegriffen.

Die α -Carbonsäure des Pyrrols (26) läßt sich unter sehr milden Bedingungen durch hydrogenolytische Spaltung des Benzylesters freisetzen. Die Reaktion verläuft praktisch quantitativ; durch Dünnschichtchromatographie sind keine Neben- oder Ausgangsstoffe feststellbar. In Abänderung der Reaktionsvorschrift ²¹⁾ wurde das Produkt nach Abziehen des Lösungsmittels ohne weitere Aufarbeitung in die nächste Stufe eingeführt ²²⁾. Die Decarboxylierung und Zyklisierung zum Porphyrin (25) erfolgte in einem Schritt durch saure Katalyse. Nach Ausfällung des Porphyrins (die Ausbeute beträgt etwa 50 %), läßt sich das Nebenprodukt mit Chloroform aus dem Filtrat extrahieren. Aus dem ^1H -NMR-Spektrum geht hervor, daß es sich um ein Substanzgemisch aus kondensierten bzw. polymerisierten Pyrrolen handelt.

2.4. Pyrromethan

Es gibt in der Literatur etliche Hinweise darauf, daß Acetoxymethylpyrrole äußerst reaktiv sind ²³⁻²⁷⁾ und zum Teil wie die Substanz (28) sogar schon beim Umkristallisieren ²⁴⁾ zur Alkoxy-methylverbindung (z.B. 29) weiterreagieren.

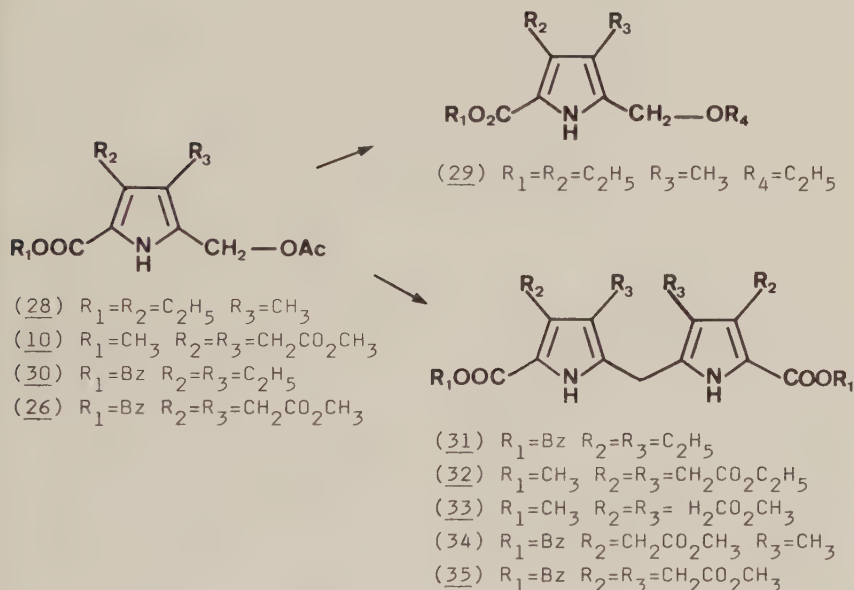


Abb. 11: Reaktionsmöglichkeiten von α -Acetoxymethylpyrrolen

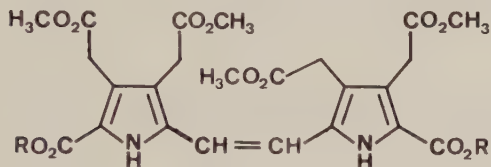
Wie schon weiter oben angemerkt wurde, sehen die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Acetoxymethylpyrrole (22) und (26) unter dem Mikroskop auch nach mehrfachem Umkristallisieren nicht einheitlich aus (vgl. Seite 14). Um eindeutig klären zu können, ob als Nebensubstanz das Pyrromethan entstanden ist, sollte diese Verbindung auf unabhängigem Weg synthetisiert werden, um dann die Eigenschaften beider miteinander vergleichen zu können.

Zunächst wurde die Empfindlichkeit der Substanz 22 gegenüber Ethanol als Lösungsmittel beim Umkristallisieren geprüft. Der entstandene Niederschlag hatte einen unveränderten Schmelzbereich; aus den Daten des Massenspektrums und des ^1H -NMR-Spektrums ließ sich entnehmen, daß keine Reaktion stattgefunden hatte. Johnson und Mitarbeiter²⁶⁾ setzten das Acetoxymethylpyrrol (30) in Ethanol unter Katalyse von verdünnter Salzsäure in 66prozentiger Ausbeute zum Pyrromethan (31) um. Diese Reaktion läßt sich auf die Substanz 22 übertragen. Man erhält das Pyrromethan (32) in ebenfalls 66prozentiger Ausbeute. Die tatsächliche Ausbeute ist wahrscheinlich noch etwas höher, weil ein Teil der Estergruppen hydrolysiert sein dürfte und dieses Produkt nicht ausfällt. Das interessante an dieser Reaktionsführung war, daß die β -pyrrolischen Estergruppen umgeestert wurden, während in der α -Position der Methylester erhalten blieb, woraus Rückschlüsse auf die Stabilität der α -pyrrolischen Estergruppen erlaubt sind. Diese Erkenntnis stützt die oben geäußerte Skepsis über einen vollständigen Verlauf der Hydrolyse des Pyrrol- α -methylesters (22) (vgl. erster Weg zum Porphyrin). Es lag die Vermutung nahe, daß die Ausbeute der sauren Katalyse in Alkohol unter Wasserausschluß erhöht werden kann. Deshalb wurde versucht das Pyrrol 22 in Methanol/Schwefelsäure zum Pyrromethan 33 umzusetzen. Die Aufarbeitung nach einwöchiger Reaktionsdauer bei Raumtemperatur lieferte ein Gemisch aus Edukt und Produkt im Verhältnis 3 : 2. Der Ausschluß von Wasser erhöht also in diesem Falle die Ausbeute nicht. Von Battersby und Mitarbeitern²⁷⁾ wurde das Pyrromethan 34 in schwach saurem Milieu (Eisessig/20 % Wasser) in sehr guter Ausbeute (87 %) hergestellt. Die Übertragung der Reaktionsvorschrift auf die Substanz 22 erbrachte aber nur eine geringe Ausbeute an Produkt 33, während der Benzylester 26 unter gleichen Bedingungen nicht zum Pyrromethan 35 reagierte.

Datenvergleich der Acetoxymethylverbindung 22 und des Pyrromethans (33):

	<u>22</u>	<u>33</u>
Schmelzpunkt (°C)	115 - 122	151
^1H -NMR-Shift von CH_2 an C-2 (ppm)	5.11	3.84

Auch im Massenspektrum der Substanz (22) ($m/e = 341$) ist der Molepik des Pyrromethans (33) ($m/e = 550$) nicht zu sehen, aber bei höheren Temperaturen dimerisiert das Acetoxymethylpyrrol (22) zu einem Molekül (36) mit der Masse 562, dessen Entstehung formal auf die Abspaltung von zwei Molekülen Eisessig zurückgeführt werden kann:



(36) R=CH₃

(37) R=Bz

Für die Substanz (26) ($m/e = 417$) gilt entsprechendes; sie dimerisiert zu einem Molekül (37) mit der Masse 714.

Im Gegensatz zu peralkylierten Pyrromethanen, die leicht zu Pyrromethenen oxidiert werden, sind solche mit elektronenziehenden Gruppen²⁸⁾, wie das hier synthetisierte Pyrromethan (32), stabil. Lediglich bei der Dünnschichtchromatographie (Silikagel) verfärbte sich die Substanz langsam. Aber bei der Behandlung mit Brom bildete sich, wie anhand der Elektronenspektren zu sehen ist, kein Pyrromethen, das als freie Base im sichtbaren Bereich zwischen 430 und 470 nm²⁹⁾ absorbieren müßte. Dieses Reaktionsverhalten ist aber für 5,5'-Dialkoxycarbonylderivate nicht ungewöhnlich²⁸⁾.

2.5. Pyrromethen

Sowohl die Elektronenspektren, die beim ersten Weg zum Porphyrin, als auch die, die beim zweiten Weg zum Porphyrin erhalten wurden, deuten darauf hin, daß zumindest das Strukturelement der Pyrromethene in den erhaltenen Nebenprodukten vorhanden sein müßte. Bei der Umsetzung des 2-Acetoxymethyl-5-hydroxycarbonylpyrrols (23), analog zur dritten Stufe in Abbildung 9, erhält man im sichtbaren Bereich des Elektronenspektrums zunächst nur eine sehr intensive Bande bei ca. 480 nm. Erst nach einiger Zeit erscheint bei 408 nm die Soret-Bande der Porphyrine.

Auch das Pyrromethen sollte deshalb gezielt dargestellt werden, um einen Vergleich der Spektren mit authentischem Material zu ermöglichen. Johnson und Mitarbeiter²⁶⁾ verwendeten für die Pyrromethensynthese das α -Ethoxycarbonylpyrrol (38), das in dem Reaktionsgemisch Ameisensäure/Bromwasserstoffsäure nach Hydrolyse und Decarboxylierung mit Ameisensäure zum Pyrromethen (39) reagiert.

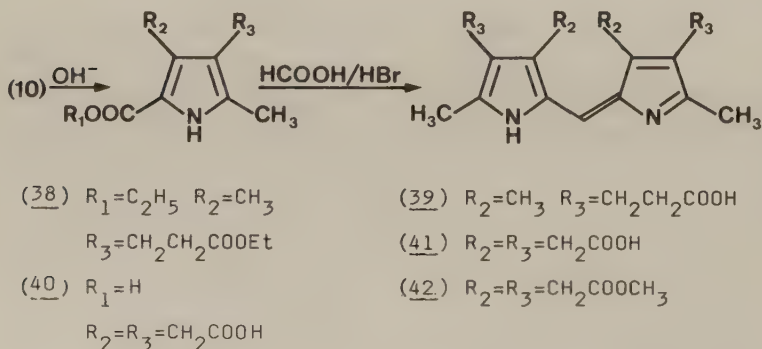


Abb.12: Synthese des Pyrromethens

Da der Methylester stabiler ist als der Ethylester, wurde die Methoxycarbonylgruppe zuerst hydrolysiert, bevor die Substanz (40) entsprechend der von Johnson angewandten Methode zum Pyrromethen (41) umgesetzt wurde. Nach Wiederveresterung zeigte sich bei der dünnschichtchromatographischen Kontrolle, daß

die Substanz (42) nicht einheitlich war. Nach Reinigung durch Säulenchromatographie wurde als erste Fraktion eine gelbe, einheitliche Substanz erhalten. Die Spektren zeigten, eine Bande bei 489 nm in Elektronenspektrum und in ^1H -NMR-Spektrum bei 6.80 ppm das Signal für das Methinproton, daß es sich um das Pyrromethen (42) handelte. Das stabilere Hydrochlorid wurde nicht hergestellt, da Pyrromethene, zumindest wenn sie elektronenziehende Gruppen besitzen, auch als freie Base stabil sein sollten³⁰⁾. Eine erneute dünnschichtchromatographische Überprüfung zeigte jedoch, daß sich das Pyrromethen (42) in kurzer Zeit zersetzt hatte.

Die im Elektronenspektrum des 3,3',4,4'-Tetraessigsäurepyrromethen-tetramethylesters (Lösungsmittel: Chloroform/Eisessig) auftretende Bande bei 489 nm macht es sehr wahrscheinlich, daß das Strukturelement des Pyrromethens in dem Nebenprodukt der Porphyrinsynthese auftritt.

2.6. Dritter Weg zum Oktaessigsäureporphyrin (4)

Angeregt durch die Synthese des Pyrromethens zeigte sich ein neuer Weg zur Darstellung des Porphyrins (4): Durch sauer katalysierte Dimerisierung zweier Pyrromethane sollte sich 4 direkt gewinnen lassen.

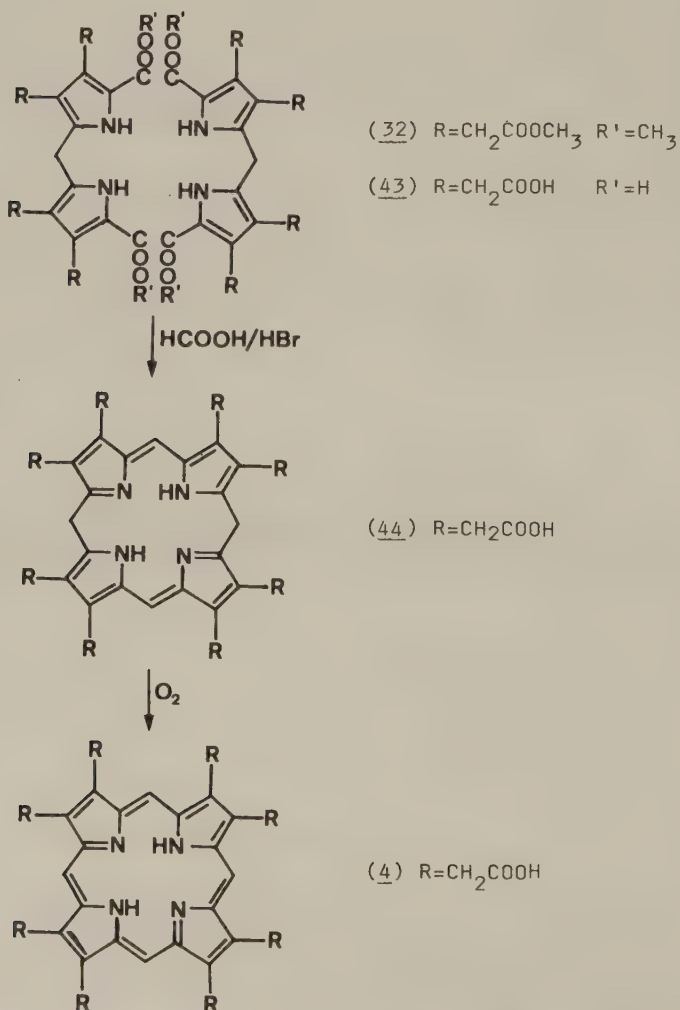


Abb.13: Syntheseweg zu Oktaessigsäureporphyrin (4)

Der Pyrromethan-hexaester (32) wurde mit Kaliumhydroxid hydrolisiert. Im Gegensatz zu dem Tricarbonsäurepyrrol (23) ließ sich das Hexacarbonsäurepyrromethan (43) fast quantitativ ausfällen. Die Ausbeute beträgt 91%. Die Dimerisierung zum Porphodimethen (44) erfolgte im gleichen Reaktionsgemisch wie bei der Pyrromethensynthese (Abb.12) in Ameisensäure/ Bromwasserstoffsäure. Die Reaktionslösung wurde ziemlich schnell dunkelrot und fing an zu fluoreszieren. Nach Isolierung und Veresterung des Porphyrins (4) belief sich die Ausbeute auf 16% bezogen auf das Hexacarbonsäurepyrromethan (43). Zwar ist die Ausbeute nicht sehr hoch, der präparative Aufwand ist jedoch gegenüber dem zweiten Weg zum Ester des Oктаessigsäureporphyrins (25) erheblich verringert.

3. Untersuchungen zur Reaktivität des Oktaessigsäureporphyrin-oktamethylesters (25)

Die nachfolgend beschriebenen Umsetzungen dienen dem ersten Kennenlernen der Reaktionsmöglichkeiten des Oktaessigsäureporphyrin-oktamethylesters, worüber noch keine Erkenntnisse vorliegen.

3.1. Darstellung des Zinkkomplexes (45)

Die Einführung eines Metallions in den Porphyrinkern beeinflusst stark die Reaktivität. Die Komplexierung erleichtert manche Reaktionen, bzw. ermöglicht sie. Als erstes sollte deshalb der Zinkkomplex dargestellt werden. Er konnte auf zwei verschiedenen Wegen in guter Ausbeute erhalten werden.

- a) Das Porphyrin wurde in Chloroform gelöst und mit einem Überschuß an Zinkacetat, gelöst in wenig Methanol, in der Siedehitze komplexiert³¹⁾. Der Zinkkomplex ließ sich mit Methanol ausfällen. Die Ausbeute betrug 85%.
- b) Nach der Methode von Adler³²⁾ wurde das Porphyrin in siedendem Dimethylformamid mit einer äquimolaren Menge Zinkacetat umgesetzt. Während sich Dimethylformamid zum Umkristallisieren des unkomplexierten Porphyrins (25) eignet, muß zum Ausfällen des Zinkkomplexes etwas Methanol zugegeben werden. Die Ausbeute betrug 88%.

3.2. Bromierung

Es wurde versucht ein Bromatom in einer α -Position des Essigsäure-Substituenten des Porphyrins (25) einzubringen. Angewandt auf Porphyrine existiert unseres Wissens keine Vorschrift, hingegen gelingt die Herstellung der α -Bromphenylessigsäure aus der als Modells substanz dienenden Phenylessigsäure bei Verwendung von N-Bromsuccinimid³³⁾. Die entsprechende Umsetzung des Porphyrins (25) unter analogen Reaktionsbedingungen mit N-Bromsuccinimid erbrachte jedoch nicht das gewünschte Produkt. Dünnschichtchromatogramme und Massenspektrum zeigten, daß das Edukt erhalten blieb.

Als nächstes wurde das Oktaessigsäureporphyrin (25) mit elementarem Brom umgesetzt. Nach Lösen in Chloroform versetzte man das Porphyrin in der Siedehitze mit Brom und bestrahlte

die Reaktionslösung mit einer Photolampe. Die rote Farbe der Lösung bekam einen gelbgrünen Schimmer und das Elektronenspektrum zeigte signifikante Änderungen, wie in Abbildung 14 zu sehen ist.

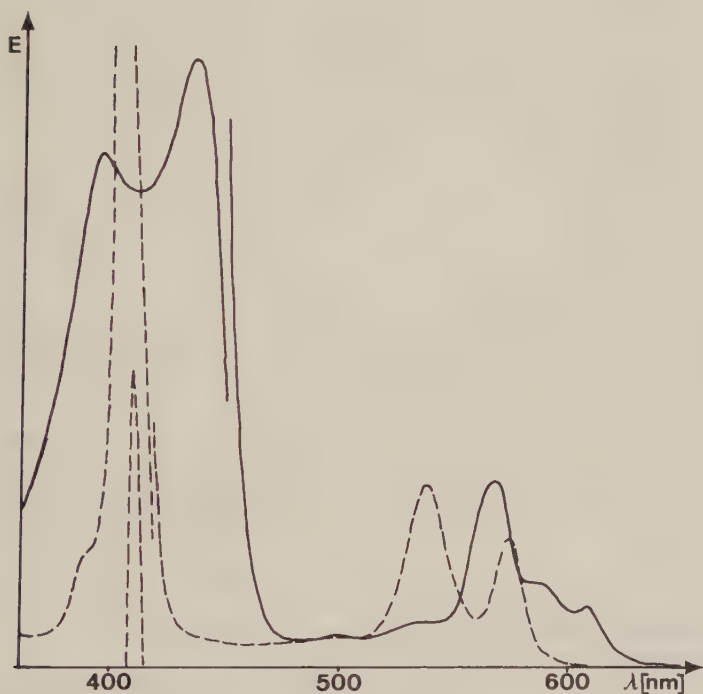


Abb.14: Elektronenspektren der bei der Bromierung entstehenden Spezies. — in Chloroform, - - - in Eisessig

Der pH-Wert der Reaktionslösung war neutral. Nach Abziehen des Chloroforms und Lösen des Rückstandes in Eisessig, zeigte das Elektronenspektrum einen dem Metallporphyrinen analogen Kurvenverlauf: eine ins längerwellige verschobene Soret-Bande und zwei Banden im sichtbaren Bereich. Schüttelt man dagegen die Reaktionslösung mit Wasser aus und puffert mit Natriumhydrogencarbonat ab, dann erhält man die Ausgangsverbindung zurück. Ähnliche Beobachtungen machte Fischer ³⁴⁾ als er Okta-

ethylporphyrin (21) bromierte. Er beschreibt, daß die Lösung das saure Porphyrinspektrum zeigt, das bei Zugabe von Pyridin sofort in das neutrale übergeht.

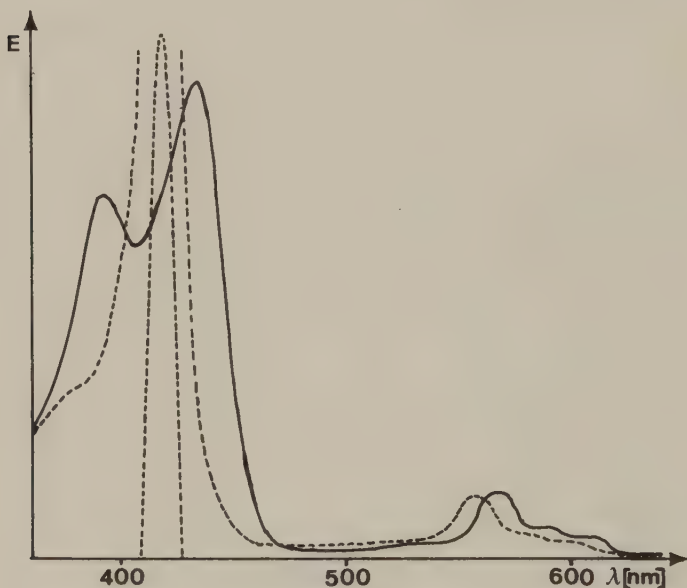
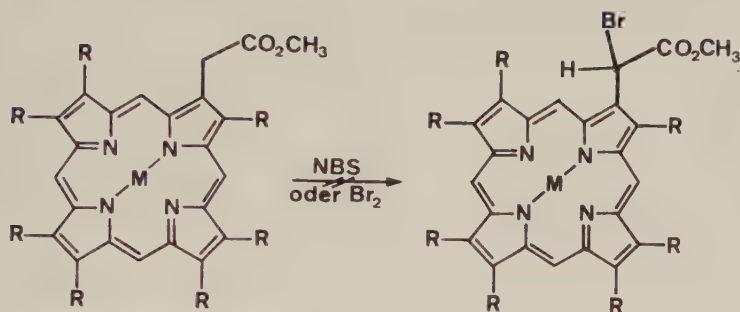


Abb.15: ————— Elektronenspektrum des Bromierungsprodukts in Chloroform
----- Substanz (25) gelöst in 47prozentiger Bromwasserstoffsäure

Im Falle des Oktaessigsäureporphyrin-oktamethylesters (25) ist das Spektrum des Bromierungsproduktes nicht identisch mit dem "sauren Porphyrinspektrum". Wie in Abbildung 15 zu sehen ist, besteht im sichtbaren Bereich zwar eine große Ähnlichkeit, aber beim Bromierungsprodukt zeigt sich eine Aufspaltung der Soret-Bande. Sehr wahrscheinlich ist der beobachtete Effekt auf die reversible Bildung von Molekülkomplexen mit dem Brom zurückzuführen.

Bei dem Versuch einer Bromierung des Zinkkomplexes (45) wurde nach Aufarbeitung und Säulenchromatographie ebenfalls keine Fraktion erhalten, die ein höheres Molekulargewicht besaß als die Ausgangssubstanz:



(25) $R = \text{CH}_2\text{COOCH}_3$ $M = 2\text{H}$

(45) $R = \text{CH}_2\text{COOCH}_3$ $M = \text{Zn}$

3.3. Erzeugung des Anions des Zinkkomplexes (45)

Zu Säuregruppen benachbarte Methylenprotonen sind leicht sauer, ein Effekt, der durch aromatische Systeme als weiteren Substituenten noch verstärkt wird. Durch Zugabe von starken Basen läßt sich das Anion erzeugen. Bei der dem Oktaessigsäureporphyrin-oktamethylester (25) analogen Verbindung Phenylessigsäureethylester zum Beispiel beträgt der pK_S -Wert für die α -ständigen Protonen $\text{pK}_\text{S} = 17$ ³⁵⁾. Der Wert für das Porphyrin sollte in der gleichen Größenordnung liegen. Die Basizität von Lithiumdiisopropylamid ($\text{pK}_\text{B} > 23$ ³⁶⁾) sollte demnach ausreichen um dem Porphyrin (25) ein Proton aus der Methylengruppe eines der Substituenten zu entreißen.

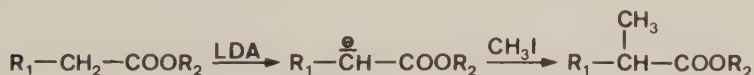
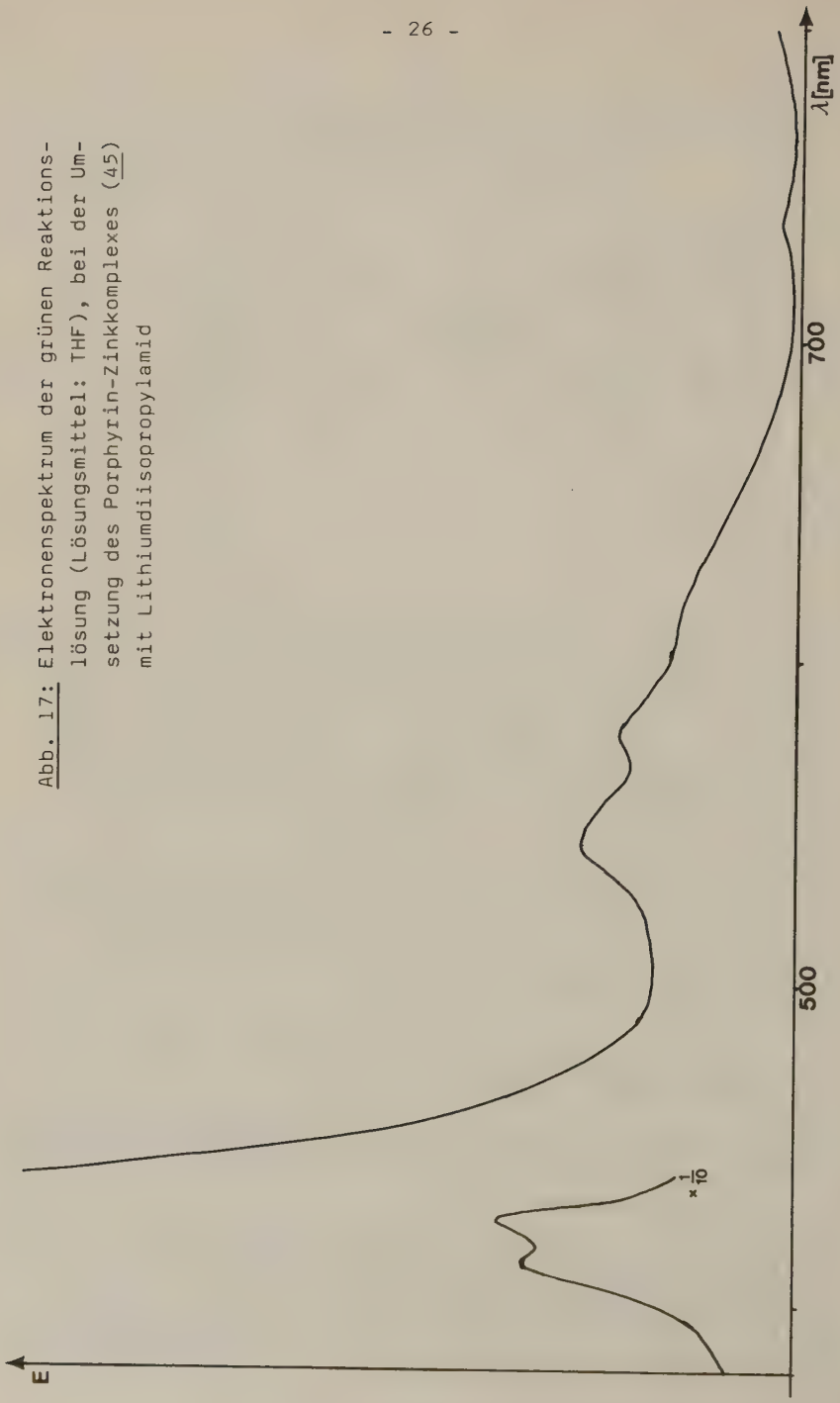


Abb.16: Reaktionsmöglichkeit der Methylengruppe von Phenylessigsäureethylester ($\text{R}_1 = \text{C}_6\text{H}_5$ $\text{R}_2 = \text{C}_2\text{H}_5$) und analoger Verbindungen wie Substanz (45)

Als Voraussetzung dazu müssen aber zuvor die stärker sauren N-H-Protonen entfernt worden sein, weshalb für diese Reaktion der Zinkkomplex (45) verwendet wurde. Die Substanz löste man unter Inertgasatmosphäre (Stickstoff) in absolutem Tetrahydro-

Abb. 17: Elektronenspektrum der grünen Reaktions-
lösung (Lösungsmittel: THF), bei der Um-
setzung des Porphyrin-Zinkkomplexes (45)
mit Lithiumdiisopropylamid



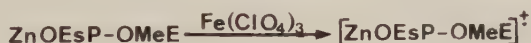
furan (Die Löslichkeit ist gering) und dann gab man Lithium-diisopropylamidlösung zu, bis die Farbe der Reaktionslösung von rot nach grün umschlug (Elektronenspektrum: Abbildung 17). Die Reaktion ist reversibel; durch Zugabe von Methanol erhält man die Ausgangssubstanz zurück.

In einem weiteren Versuch wurde versucht durch Zusatz von Methyljodid (Abbildung 16) die Existenz des Anions zu sichern, was aber nicht gelang: im Massenspektrum konnten keine höheren Massen als die der Ausgangsverbindung nachgewiesen werden.

3.4. Radikalerzeugung

Radikale von Metalloporphyrinen lassen sich mit folgenden Reagenzien erzeugen: Eisen III -chlorid³⁷⁾, EisenIII-perchlorat³⁸⁾, Dichlor-dicyanobenzochinon³⁷⁾ und Brom^{39,40)}.

Als bestes Reagenz für den Zinkkomplex des Oktaessigsäureporphyrins (45) hat sich das Eisen III -perchlorat erwiesen:



Im Elektronenspektrum erscheint eine neue Bande bei 670 nm, während die Intensität der ursprünglich vorhandenen Banden abnimmt.

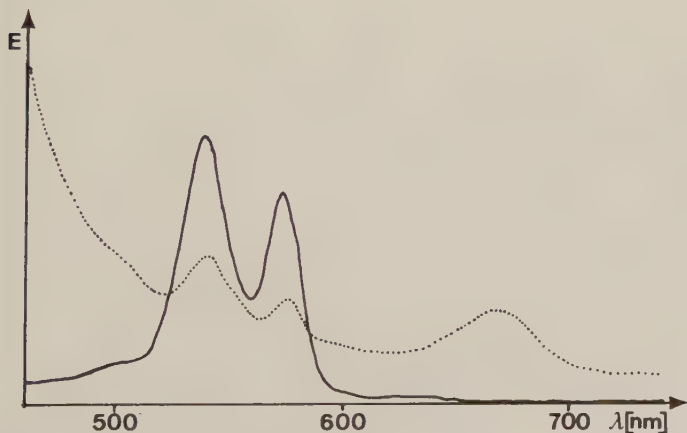


Abb.18: Elektronenspektren des Zinkkomplexes des Oktaessigsäureporphyrin-oktamethylesters (45) in Chloroform: — vor und nach der Zugabe von Eisen III-perchlorat

Die Reaktion ist reversibel; nach Zugabe von Triethylamin erscheint wieder das ursprüngliche Metalloporphyrinspektrum. Bei Zugabe eines Überschusses an Triethylamin allerdings verschieben sich die Banden im sichtbaren Teil des Spektrums etwas ins Längerwellige, was aber nicht auf der Entstehung eines neuen Produktes, sondern auf den basischen Eigenschaften des Triethylamins beruhen.

Von dem mit Eisen III -perchlorat erzeugten Kationradikal des Zink-oktaessigsäureporphyrin-oktamethylesters (45) kann bei höheren Porphyrinkonzentrationen ($c = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$) auch ein Elektronenresonanzspektrum ohne Feinstruktur erhalten werden:

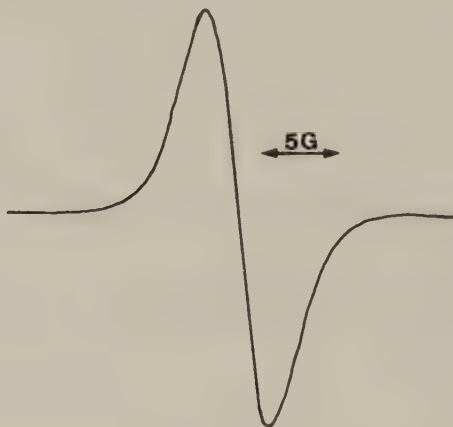


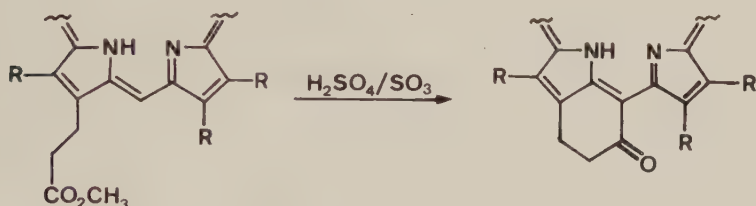
Abb. 19: Elektronenresonanzspektrum von 45 gelöst in Chloroform und gezeugt mit Eisen III -perchlorat

Das erhaltene Singulett bei $g = 2.0033$ hat eine Linienbreite von 3.6 G.

Im Gegensatz zum oben beschriebenen Ester (45) ließ sich aus der freien Säure des Porphyrin-Metallkomplexes (49) in wäßriger Lösung ($\text{pH}=7$) kein Radikal erzeugen, d.h. von der Lösung ließ sich kein Elektronenresonanzsignal erhalten. Auch für ein diamagnetisches Radikal-Dimeres konnten wir dem Elektronenspektrum keinen Hinweis entnehmen; eine Bande nahe 1000 nm war nicht zu beobachten. Weitere Versuche mit Eisen III -chlorid, Kaliumhexacyanoferrat (III) und N-Bromsuccinimid führten bei dem Porphyrin (49) ebenfalls zu keiner Radikalbildung.

3.5. Versuch der Bildung eines isozyklischen Ringes am Oktaessigsäureporphyrin-oktamethylester (25)

Bei Porphyrinen mit Propionsäuresubstituenten ist es möglich, durch Reaktion mit Oleum einen Ringschluß zum Sechsring zu erhalten (41a,b):



Ist anstelle der Propionsäure ein Essigsäurerest vorhanden, müßte bei analoger Reaktion ein Fünfring entstehen:



Das Entstehen des Fünfringes wäre wegen der Analogie zum isozyklischen Ring des Chlorophylls von besonderem Interesse. Viele Besonderheiten im chemischen Verhalten des Chlorophylls, das im isozyklischen Ring in α -Position zur Ketogruppe noch zusätzlich eine Methylestergruppe aufweist, sind auf die Struktur dieses Fünfring zurückzuführen (42).

Wie in der von Fischer beschriebenen Reaktion (41a) färbte sich auch bei der Umsetzung von Oktaessigsäureporphyrin-oktamethylester (25) mit Oleum das Reaktionsgemisch grün (Elektronenspektrum siehe Abbildung 20). Bei der Aufarbeitung ließ sich das Porphyrin jedoch nicht in Substanz isolieren. Die ganze Phase wurde daraufhin zur Trockene eingeeengt. Den Rückstand versuchte man in Methanol/ Schwefelsäure zu verestern; bei der

Aufarbeitung ging das Porphyrin aber wieder in die wäßrige Phase und ließ sich erneut nicht ausfällen.

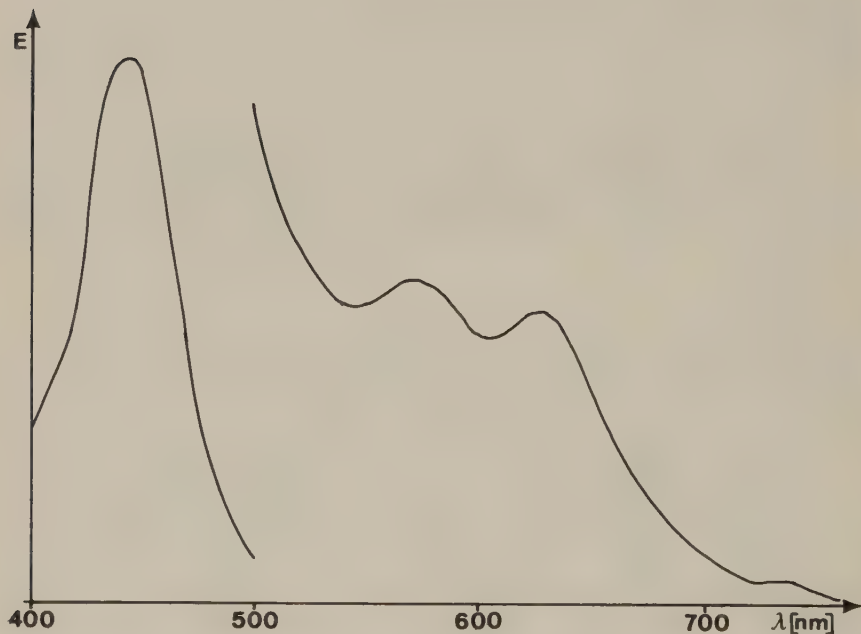


Abb.20: Elektronenspektrum der grünen Reaktionslösung bei der Reaktion von Oktaessigsäureporphyrin-oktamethylester mit Oleum

Man behandelte sowohl die bei der Aufarbeitung erhaltene wäßrige Lösung, als auch den bei der Phaseinengung erhaltenen Rückstand mit Diazomethan. Bei der Aufarbeitung war das Porphyrin in beiden Fällen wiederum in der wäßrigen Phase zu finden.

Die Veresterung des Oktaessigsäureporphyrins (4) mit Diazomethan dagegen, die zur Ausgangssubstanz (25) dieser Reaktion führte, hatte sich ohne Probleme durchführen lassen.

4. Vorversuche und erste Untersuchungen über das Verhalten von Oktaessigsäureporphyrin (4) in Mehrphasensystemen

4.1. Hydrolyse des Oktaessigsäureporphyrin-oktamethylesters (25) und seines Zinkkomplexes (45)

Die Hydrolyse der Substanzen (25) und (45) verlief glatt bei genügend langer Reaktionsdauer. Bei dem Porphyrin (25) reichte zum Beispiel das fünfstündige Einwirken von Kalilauge in der Siedehitze nicht zur vollständigen Hydrolyse aus. Durch Ansäuern mit Salzsäure wurden die Substanzen ausgefällt und isoliert.

4.2. Vergleich der Elektronenspektren bei verschiedenen pH-Werten

Folgende eingestellte Pufferlösungen wurden verwendet:

pH=3 (Citrat-Salzsäure), pH=5 und 6 (Citrat-Natronlauge), pH=7 (Phosphat), pH=9 (Borsäure/Kaliumchlorid-Natronlauge) und pH=12 (Phosphat-Natronlauge).

Es wurden Lösungen gleicher Konzentration hergestellt und mit jeder führte man drei Messungen durch und zwar sofort nach der Zugabe der entsprechenden Pufferlösung, nach vierundzwanzig Stunden und nach zehn Tagen.

a) Zinkkomplex (49)

Während der Ester (45), gemessen in Chloroform, seine Banden bei 578,543 und 415 nm hat, liegen diejenigen der freien Säure in Phosphat-Puffer (pH=7) bei 576, 540 und 411 nm. Die Lage der Banden ist pH-Wert-abhängig.

Eine signifikante Änderung der Spektren wird bei niedrigen pH-Werten beobachtet (vgl. Abb. 21a). Die α -Bande nimmt an Intensität ab, dafür entsteht eine neue Bande bei 595 nm, die um so intensiver ist, je niedriger der pH-Wert ist. Die α -Bande wird zur Schulter. Die β -Bande verschiebt sich etwas ins Längerwellige. Bei pH=3 ist die neu entstandene Bande bei 595 nm intensiver als die α -Bande. Die Soret-Bande, die bei 388 nm eine Schulter hat, wird immer geringer in der Intensität, bis sie bei pH=3 verschwunden und die Schulter zur Bande geworden ist.

Während der Zinkkomplex des Porphyrins bei pH=3 schon nach vierundzwanzig Stunden zum größten Teil und nach zehn Tagen quantitativ ausgefallen war (vgl. Abb. 21b), befand sich bei

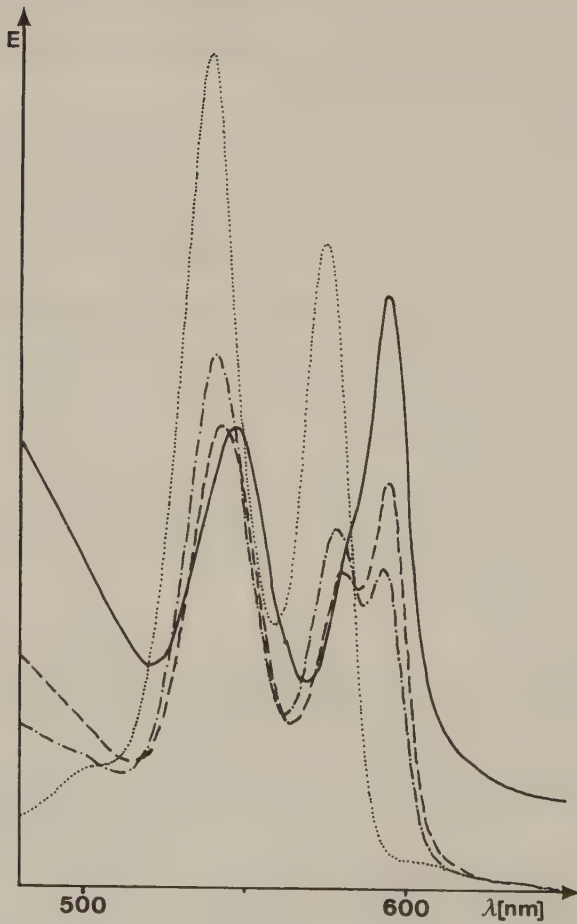


Abb.21a: Oktaessigsäureporphyrin-Zinkkomplex-Elektronenspektren bei verschiedenen pH-Werten. Gemessen sofort nach dem Zusammengeben.

- pH=6
- . - . - . - . - . ungepuffert in destiliertem Wasser
- pH=5
- pH=3

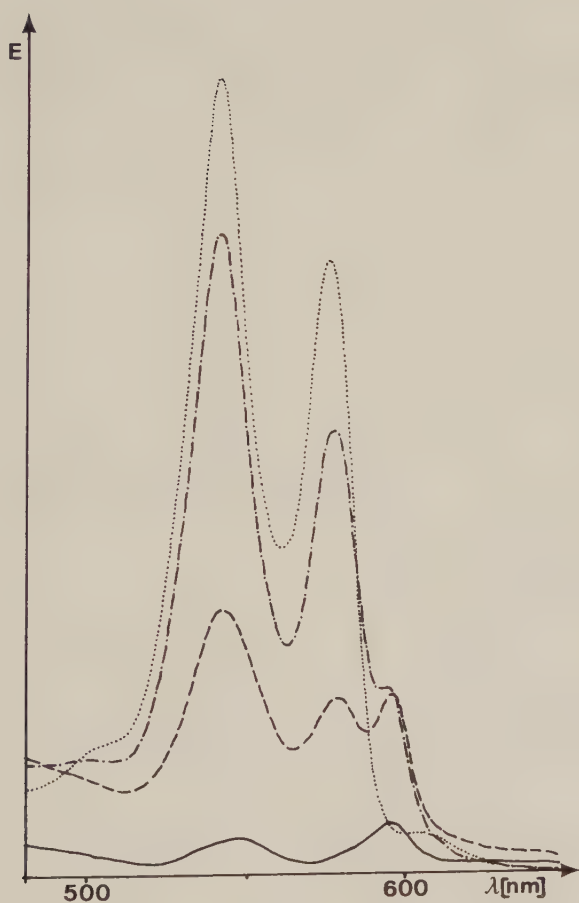


Abb.21b: Elektronenspektren des Oktaessigsäureporphyrin-Zinkkomplexes bei verschiedenen pH-Werten. 24 Stunden nach dem Zusammengeben gemessen.

- pH=6
- ungepuffert in destilliertem Wasser
- pH=5
- pH=3

pH=5 auch nach zehn Tagen noch ein Teil des Porphyrin-Zink-komplexes in Lösung.

Zu Vergleichszwecken wurde noch das Elektronenspektrum des Oктаessigsäureporphyrin-Zinkkomplexes in destilliertem Wasser gemessen, das bei den folgenden Untersuchungen als Lösungsmittel dienen sollte. Das Aussehen des Spektrums entspricht einem pH-Wert zwischen 5 und 6.

b) Oктаessigsäureporphyrin (4)

Die Banden des Esters (in Chloroform) liegen bei 626,5, 572, 534, 501 und 405 nm.

Die Banden der freien Säure in Phosphat-Puffer (pH=7) liegen bei 613, 561, 538, 502 und 398 nm. Die Differenz der Bandenlagen zwischen Ester und Säure ist im Fall der freien Base (4) deutlich größer als im Falle des Zinkkomplexes (49). Bei pH-Werten größer 7 unterscheiden sich die Spektren nur um Nuancen, bei niedrigen pH-Werten sind jedoch wieder starke Veränderungen zu beobachten (vgl. Abb. 22, S. 35).

pH=6: Die Banden I und IV verlieren an Intensität, während die der Bande II zunimmt.

pH=5: Die bei pH 6 beobachtete Tendenz setzt sich fort, jedoch ist bei 594 nm eine neue Bande entstanden, ebenso bei 555 nm. Die Banden I, II und III sind nur noch als Schultern zu sehen. Die 555 nm-Bande ist jetzt die intensivste im sichtbaren Bereich. Das Maximum der Soret-Bande hat sich auf 407,5 nm ins Längere Wellige verschoben und hat an Intensität zugenommen. Es handelt sich bei dieser neuen Spezies um das Kation (Stickstoffprotonierung) des Oктаessigsäureporphyrins, sehr wahrscheinlich um das Monokation⁴³⁾ (vgl. II in Abb. 29, S. 44).

pH=3: Die Banden sind alle sehr breit und wenig intensiv: I 640, II 580, III 500 (Schulter), IV 512 und Soret-Bande bei 376 nm. Das Ausfällen der Substanz dauert länger als beim Zinkkomplex; selbst nach zehn Tagen ist noch ein Teil der Substanz in Lösung.

Die bei den anderen pH-Werten zum späteren Zeitpunkt gemessenen Spektren sind quasi unverändert, nur die Spektren bei pH=7 und 9 zeigen eine zusätzliche Bande bei 460 nm, die auf Zersetzung des Porphyringerüsts hindeutet. Als

Folge davon sind die Intensitäten der anderen Banden verringert.

Löst man Oktaessigsäureporphyrin (4) in destilliertem Wasser, so erhält man ein Spektrum, das einem pH-Wert zwischen 5 und 6 entspricht. Bande II ist in der Intensität erhöht, dagegen Banden I und IV verringert. Die Soret-Bande bei 400 nm hat eine Schulter bei 408 nm.

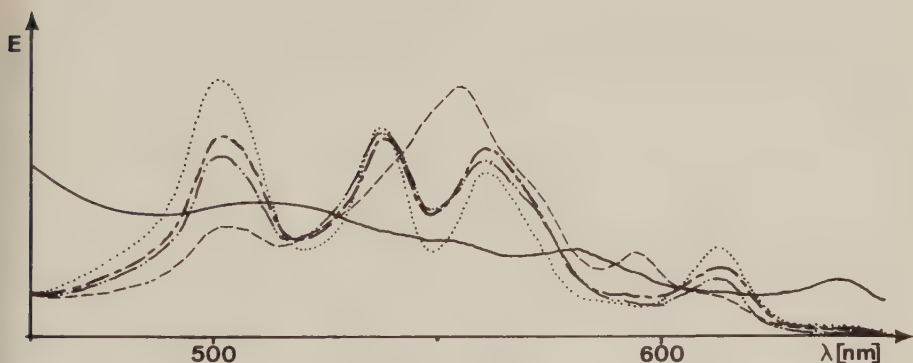


Abb. 22: Elektronenspektren des Oktaessigsäureporphyrins (4) bei verschiedenen pH-Werten sofort nach den Zusammengeben: pH=7, ---- pH=6, - · - · - ungepuffert in destilliertem Wasser, ---- pH=5, ————— pH=3

Löslichkeiten

Bemerkenswert ist, daß sich fester Oktaessigsäureporphyrin-Zinkkomplex (49) ohne weiteres in destilliertem Wasser löst, die freie Base des Porphyrins dagegen nicht. Um Oktaessigsäureporphyrin (4) in wäßrige Lösung zu bekommen, muß es in mit Kaliumhydroxid auf pH=8 gebrachtem Wasser unter Rückfluß gekocht werden. Nach dem Abkühlen hat sich der pH-Wert auf etwa 5,5 verringert (Pufferwirkung der Essigsäuregruppen). Beim Verdünnen der Lösung mit destilliertem Wasser verändert sich das Aussehen des Elektronenspektrums in Richtung des bei pH=5 auftretenden Monokations (Stickstoffprotonierung).

4.3. Phasentransfer

In Mehrphasensystemen sollte als erstes die Wechselwirkung des Oktaessigsäureporphyrins mit Dimethyldidodecylammoniumchlorid (46) untersucht werden. Gibt man das wasserunlösliche Salz (46), das große unpolare Kationen besitzt, in die wäßrige Porphyrinlösung, schüttelt dann mit Chloroform aus, so färbt sich die Chloroformphase rot, während sich die wäßrige Phase entfärbt. Sehr wahrscheinlich bilden das positiv geladene Dimethyldidodecylammonium und das negativ geladene Oktaessigsäureporphyrin ein Salz. Die Ladungen neutralisieren sich und nach außen ragen die langen hydrophoben Ketten, wodurch das Salz in unpolaren Lösungsmitteln löslich wird ("inverse Micelle").

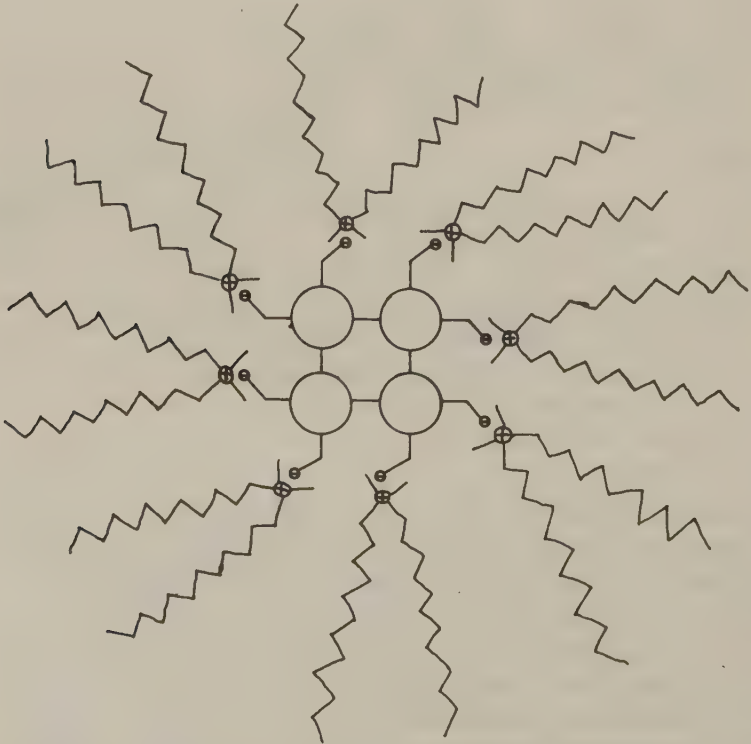


Abb. 23: Schematische Darstellung des in unpolaren Lösungsmitteln löslichen Salzes mit Oktaessigsäureporphyrin (4) in der Mitte und acht Dimethyldidodecylammonium (46)

In der unpolaren Phase wesentlich schlechter löslich ist das Salz mit 3,5-Dicarbo-n-hexadecyloxyphenyl-trimethylammonium ⁴⁴⁾ (47) (vgl. Abb. 25, S. 39) als Gegenionen.

4.4. Titration von Oktaessigsäureporphyrin (4) in micellarer Lösung

Aus dem Porphyrin (4) und Natriumlaurylsulfat ⁴⁵⁾ wurde eine micellare Lösung hergestellt, die man mit Salzsäure titrierte. Die Titration wurde elektronenspektroskopisch verfolgt.

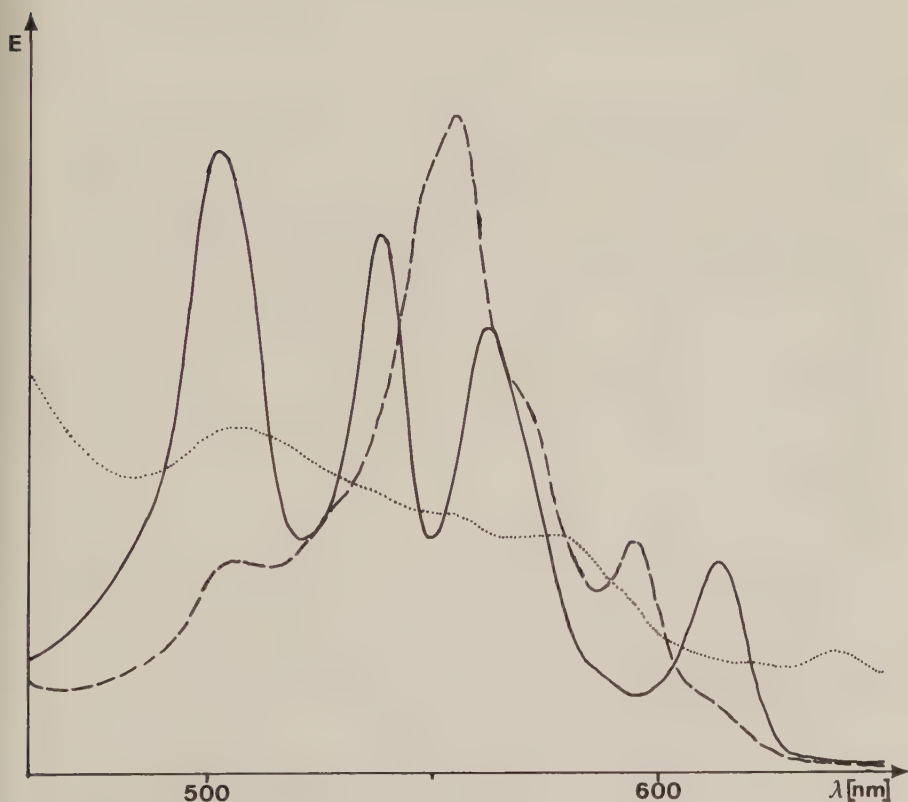


Abb. 24: Ausgewählte Kurven der Titration von Porphyrin (4) in micellarer Lösung: — Anfangsspektrum, — — — nach Zugabe von 80 μ l: Monokation, nach Zugabe von 140 μ l 0,01 N HCl: ausgefallenes Porphyrin

Das Ausgangsspektrum ist ein typisches Porphyrinspektrum mit vier Banden im sichtbaren Bereich. Nach Zugabe von 80 μ l 0,01 N Salzsäure ist das Maximum an Monokationkonzentration (Stickstoffprotonierung) erreicht. Weitere Zugabe an Salzsäure bewirkt ein Ausfällen des Porphyrins; die Intensität der Banden nimmt entsprechend ab. Das Verhalten des Porphyrins in micellarer Lösung ist analog zu dem in wäßriger Lösung (s. Kapitel 4.2.6). Bei pH=5 wird eines der beiden freien Stickstoffe des Porphyrinkerns protoniert und weitere Säurezugabe führt zur Ausfällung des Moleküls. Das Dikation des Porphyrins (4) (Protonierung beider freier Stickstoffatome) kann demnach in wäßriger Lösung durch Titration nicht erzeugt werden.

4.5. Über das Verhalten des Porphyrins (4) in Vesikellösungen mit positiven Kopfgruppen

Als erstes wurde Dimethyldidodecylammoniumchlorid (46) (vgl. S. 39 in Abb. 25) für die Vesikelpräparation verwendet. Nach der Zugabe der Porphyrinlösung fiel das Porphyrin sofort aus. Der pH-Wert der Vesikellösung lag etwa bei 2. Wie erst später herausgefunden wurde, beruht dieser "saure Effekt" auf einen Rückstand von Chloroform, das bei der Herstellung der Vesikel verwendet worden war (s. Experimenteller Teil). Bei der ebenfalls für die Herstellung der Vesikel nötigen Ultrabeschallung zersetzt sich das Chloroform erst zu Phosgen, dann zu Chlorwasserstoff (46).

Wegen der oben beschriebenen Schwierigkeiten wurde für die nächste Vesikelpräparation 3,5-Dicarbo-n-hexadecyloxyphenyltrimethylammoniumjodid (47) verwendet, wobei man statt Chloroform Methanol benutzen konnte. Nach Zusammengeben von Vesikel- und Porphyrinlösung fiel wieder ein rotbrauner Niederschlag aus. Der pH-Wert der Lösung war neutral. Durch erneute Beschallung gingen die Substanzen wieder in Lösung.

Die Titration der Lösung mit Salzsäure wurde elektronenspektroskopisch verfolgt. Es entsteht kein Monokation; die Banden verlieren an Intensität und die Maxima verschieben sich etwas zu längeren Wellenlängen. Nach Zugabe von insgesamt 400 μ l 0,01 N Salzsäure beträgt der pH-Wert der Lösung 4, jedoch ist

das Porphyrin nicht ausgefallen und die Intensität der Banden ist nur um ein Viertel zurückgegangen (vgl. Titration des Porphyrins in micellarer Lösung Kapitel 4.4.).

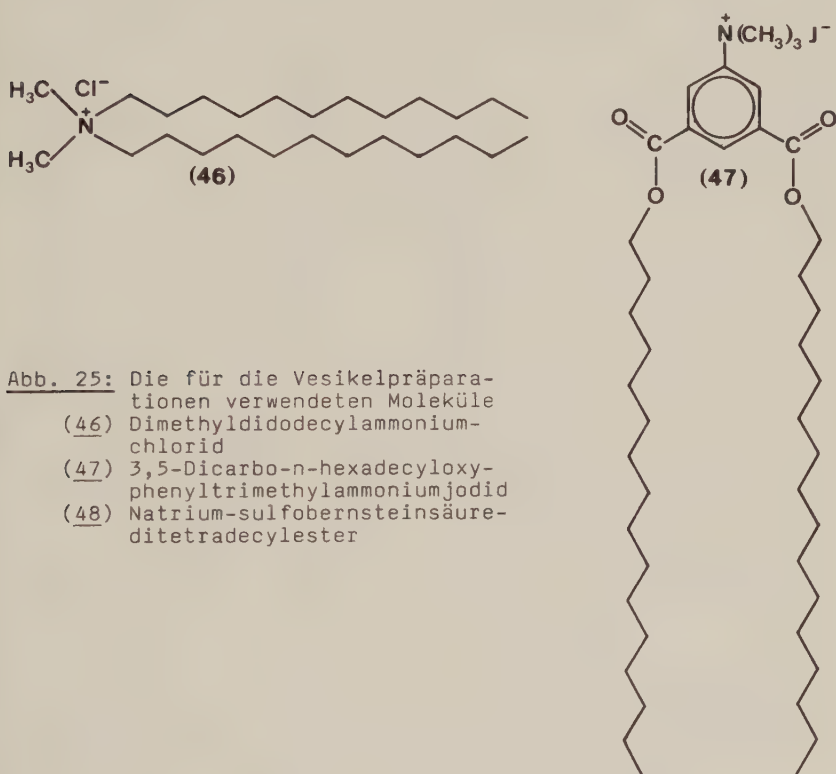


Abb. 25: Die für die Vesikelpräparationen verwendeten Moleküle
 (46) Dimethyldidodecylammoniumchlorid
 (47) 3,5-Dicarbo-n-hexadecyloxyphenyltrimethylammoniumjodid
 (48) Natrium-sulfobernsteinsäureditetradecylester

4.6. Über das Verhalten des Porphyrins (4) in einer Vesikel- lösung mit negativen Kopfgruppen

Als vesikelbildende Substanz wurde das Natrium-Salz des Sulfobernsteinsäureditetradecylesters (48) eingesetzt⁴⁷⁾. Nach dem Zusammengeben von Vesikel- und Porphyrinlösung titrierte man mit Salzsäure und zeichnete die Änderungen im Elektronenspektrum des Porphyrins auf (vgl. Abbildungen 27a und b).

Zunächst ist der Ablauf der Titration parallel zu dem in micellarer Lösung: nach Zugabe von 80 µl 0,01 N Salzsäure ist das Maximum an Monokationkonzentration erreicht. Wenn aber jetzt weiter Säure zugegeben wird, fällt das Porphyrin nicht aus, sondern es erscheint erneut ein vierbandiges Spektrum, mit, gegenüber dem Ausgangsspektrum, leicht verschobenen Maxima. Diese erreichen ihre größte Intensität nach der Zugabe von insgesamt 180 µl 0,01 N Salzsäure. Am weitesten verschoben ist Bande I, nämlich von 613 auf 625 nm; die Lage der anderen Banden: II 568 nm, III 536 nm und Bande IV bei 500 mit Schulter bei 502 nm. Die Soret-Bande ist zu 405 nm verschoben.

Bei Verwendung von Lösungen, die schon zirka eine Woche alt waren, ist die für die Titration benötigte Menge an Säure erhöht und die Bande II behält eine Schulter bei 558 nm.

Die Titration ist mit Natronlauge weitgehend reversibel. Die Anfangsintensitäten erreichen die Banden allerdings nicht.

Gibt man statt Natronlauge weiter Säure zu, dann verlieren alle Banden an Intensität und man erhält, nach Zugabe von weiteren 200 µl 0,01 N Salzsäure, das Spektrum des ausgefallenen Porphyrins mit der typischen Bande bei 640 nm.

Für das Ergebnis der Titration machte es keinen Unterschied, ob das Porphyrin zur fertigen Vesikellösung gegeben wurde, oder zusammen mit der vesikelbildenden Substanz (48) beschallt worden ist.

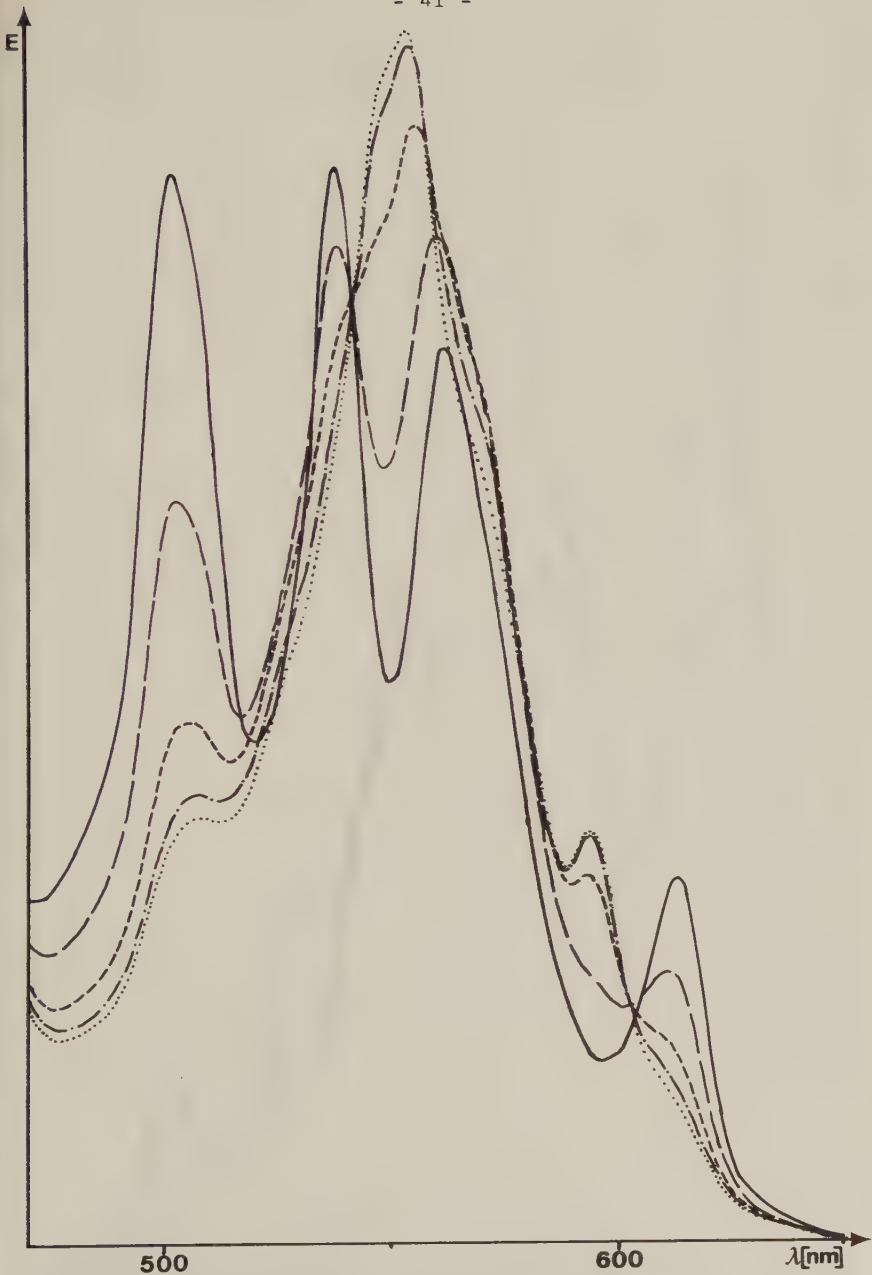


Abb. 26a: Titration von (4) mit 0,01 N HCl in vesikulärer Lösung von (48): Anfangsspektrum——, nach Zugabe von 20μl——, 40μl-----, 60μl—·—, 80μl·····

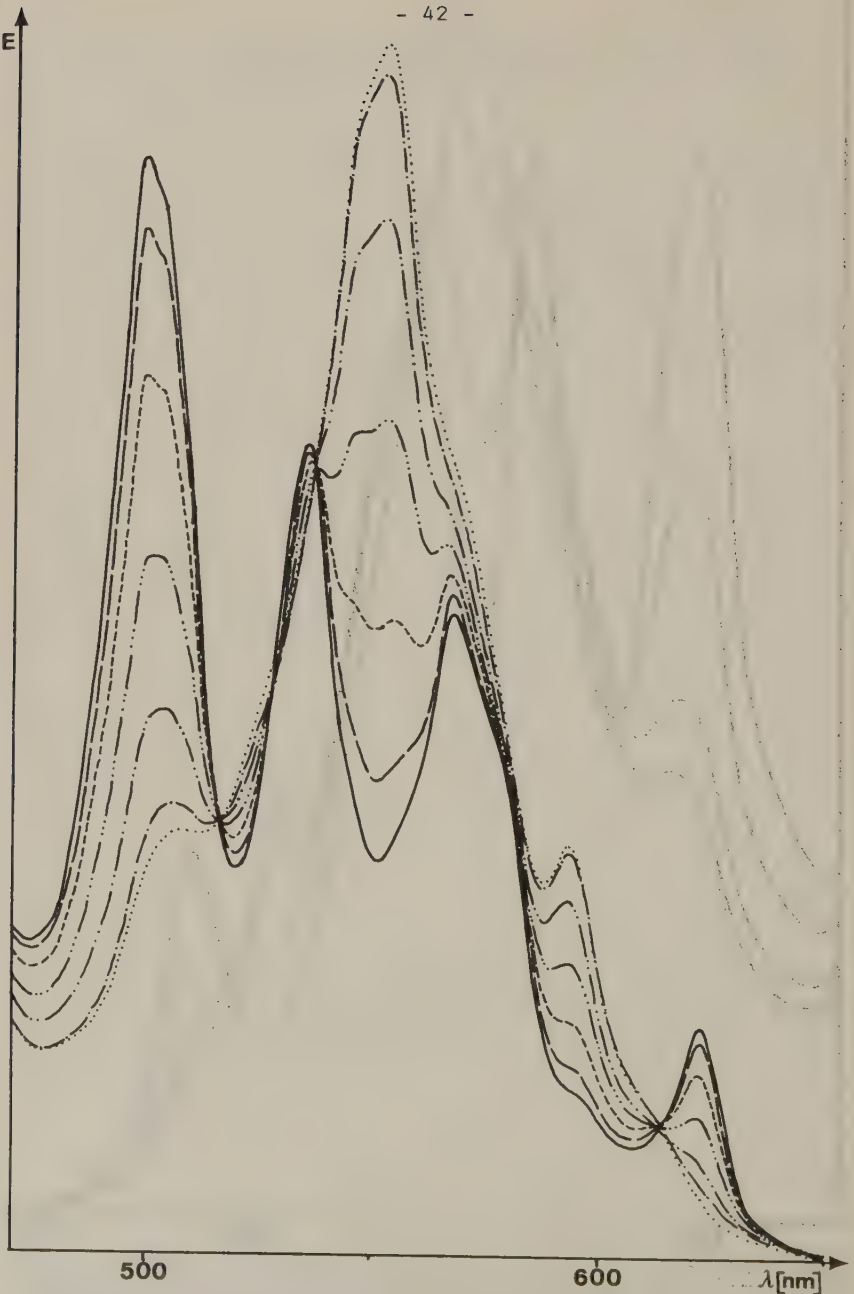


Abb. 26b: Titration von (4) mit 0,01 N HCl in vesikulärer Lösung von (48): nach Zugabe von 80μl....., 100μl — — — — —, 120μl — · — · —, 140μl — · — — —, 160μl — — — — —, 180μl — — — — —, 200μl — — — — —.

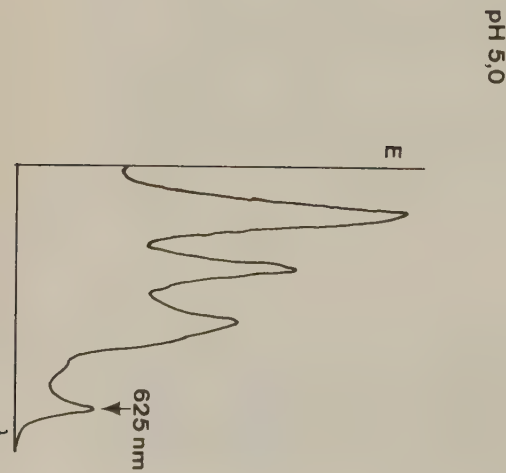
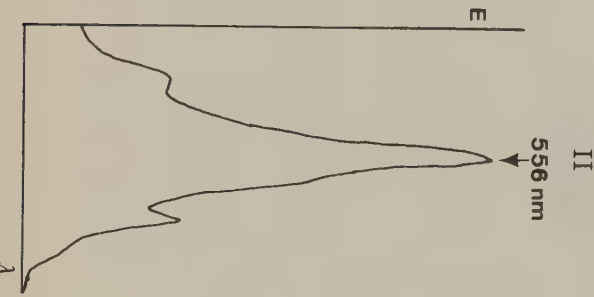
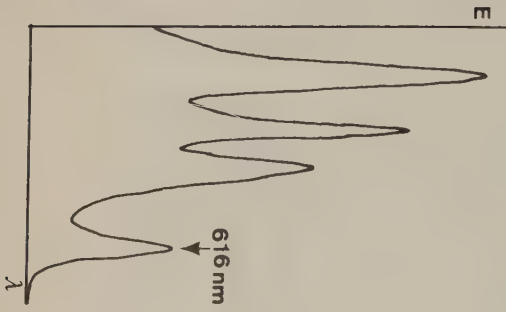
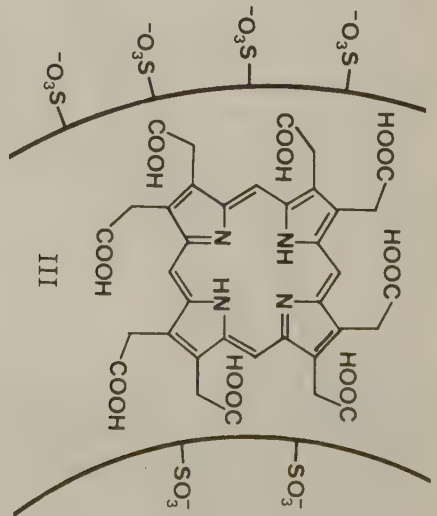
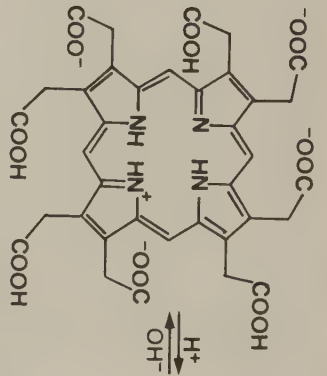
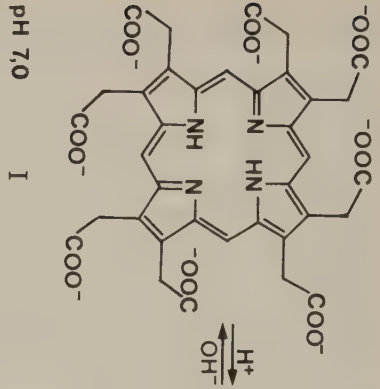
4.6.1. Interpretation des Titrationsergebnisses

Das Porphyrin (4) ist durch seine Carboxylatgruppen löslich (I in Abb. 27).

Zu Beginn der Titration hatte die Porphyrin(4) -Vesikel(48)-Lösung einen pH-Wert von 5,5 (Elektronenspektrum vgl. Abb. 33, Porphyrin in destilliertem Wasser). Durch Zugabe von Säure wird eine Ladung nach der anderen neutralisiert, vermutlich zunächst an je einem Substituenten pro Pyrrolring. Als nächstes wird wahrscheinlich eines der Stickstoffatome des Porphyringerüstes protoniert (Monokation, II in Abb. 27), denn dieses ist noch in Wasser löslich und sollte deshalb mehr als zwei Ladungen besitzen. Das Protoporphyrin mit zwei Carboxylgruppen ist bei diesem pH-Wert bereits nicht mehr löslich⁴⁸⁾. Bei weiterer Säurezugabe erfährt das Porphyrin eine weitere Neutralisierung der negativen Gruppen, d.h. das Molekül wird immer unpolarer. Wenn der Punkt erreicht ist, an dem das Molekül insgesamt elektroneutral ist, würde es aus der wäßrigen Lösung ausfallen. Bei Gegenwart von Vesikeln jedoch kann sich das Porphyrin in der unpolaren Membran lösen (III in Abb. 27), ein Prozeß, der vermutlich beginnt, sobald einer der vier Pyrrolringe des Porphyrins zwei ungeladene Substituenten trägt. Durch die Pufferwirkung der beteiligten Gruppen sinkt der pH-Wert lediglich auf 5 ab.

Es wird also die paradoxe Erscheinung beobachtet, daß bei Zugabe von Protonen aus einem protonierten Porphyrinkation (II in Abb. 27) die nichtprotonierte Porphyrinbase (III in Abb. 27) entsteht. Dies erklärt sich aus den ähnlichen pK-Werten der Porphyrinstickstoffe und der Essigsäure-Substituenten, sowie daraus, daß in der Vesikelmembran die Protonenkonzentration abfällt.

Legende zu Abb. 27 (s. S. 44): Interpretierende Darstellung der bei der Titration von Oktaessigsäureporphyrin (4) in Vesikellösung (aus 50) auftretenden Spezies mit dazugehörenden Elektronenspektren.



4.6.2. Versuch des chromatographischen Nachweises

In der Verteilungschromatographie werden die großen Moleküle und Molekülaggregate wie z.B. Vesikel, die nicht in die Hohlräume des Polymeren passen, zuerst eluiert. Als Säulenmaterial wurde Sephadex verwendet.

Die im folgenden Text gemachten Angaben über Regionen beziehen sich auf die Abbildung 4 auf Seite 4.

Wenn sich das Porphyrin im Außenvolumen (Region 1) befindet (bei pH größer gleich 5,5), müßte es sich bei der Chromatographie von der Vesikelsubstanz abtrennen lassen. Befindet sich das Porphyrin dagegen in der Membran (Region 5, bei pH=5), so dürfte man nur eine Fraktion erhalten.

Zunächst wurde versucht, als Laufmittel Pufferlösungen zu verwenden. Die Vesikelsubstanz (48) fiel jedoch aus, was vermutlich auf der erhöhten Fremdionenkonzentration beruht. Diese Annahme wurde dadurch gestützt, daß auch bei Zugabe von Kaliumchlorid zu Vesikellösungen der Vesikelbildner ausfiel, ein Effekt, der daraufhin als Nachweis der Vesikelfraktion verwendet wurde.

Für den Fall, daß sich das Porphyrin im Außenvolumen (Region 1) befand, benutzte man als Eluierungsmittel destilliertes Wasser, mit dem sich Vesikel und Porphyrin auch gut trennen ließen. Für das vermutlich in der Vesikelmembran gelöste Porphyrin (in Region 5, nach elektronenspektroskopischer Verfolgung der Titration, vgl. III in Abb. 27) verwendete man zum Eluieren auf pH=5 angesäuertes Wasser. Es wurde nur eine Fraktion erhalten: Vesikel und Porphyrin kamen zusammen von der Säule. Das Elektronenspektrum der Lösung zeigte aber nicht mehr das gleiche Spektrum wie die Lösung, die auf die Säule gegeben worden war (III in Abb. 27). Die Banden der eluierten Lösung waren breit und wenig intensiv, vergleichbar mit dem Spektrum der Lösung mit ausgefallenenem Porphyrin (s. dazu Abb. 22, Elektronenspektrum des Oktaessigsäureporphyrins bei pH=3). Man erhält unter den gegebenen Bedingungen Molekülaggregate, weshalb die Substanzen in einer Fraktion von der Säule kommen, was aber keine Aussage darüber erlaubt, in welcher Region der Vesikel sich das Porphyrin befindet.

4.7. Versuchte Anreicherung des Porphyrins (4) im Innenvolumen der Vesikel

Die bisher beobachtete Wechselwirkung des Porphyrins (4) mit der Vesikelsubstanz (48) besteht darin, daß das Porphyrin sich im sauren Medium ($\text{pH}=5$) in der Membran löst und im schwächer sauren (pH größer gleich 5,5) wieder herauskommt.

Eine interessante Frage ist in diesem Zusammenhang, was passieren würde, wenn das Innenvolumen der Vesikel (Region 9, vgl. Abb. 4, S. 4) alkalischer wäre als das Außenvolumen (Region 1). Die Vorgänge könnte man sich im einzelnen folgendermaßen vorstellen: Durch Ansäuern des Außenvolumens wird zwischen Außen- und Innenvolumen der Vesikelmembran ein pH-Gradient erzeugt und zum anderen wird das im Außenvolumen befindliche Porphyrin (4) durch Protonierung der Carboxylatgruppen wasserunlöslich, weshalb es in die Vesikelmembran diffundiert (vgl. S. 43). Das Oktaessigsäureporphyrin (4) "favorisiert" das alkalische Milieu (vgl. S. 43, Reversibilität der Titration), weshalb es durch den bestehenden pH-Gradienten in das alkalische Innenvolumen der Vesikel "gesaugt" und sich dort anreichern sollte (vgl. Abb. 28).

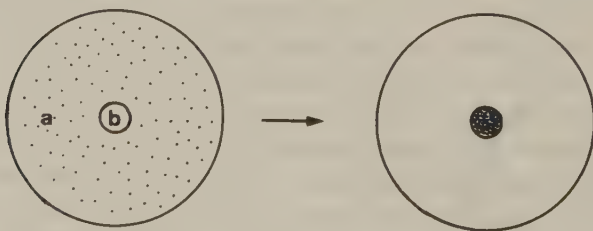


Abb. 28: Anreicherung des Porphyrins im Innenvolumen einer Vesikel a) Außenvolumen (Region 1) b) Innenvolumen einer Vesikel (Region 9)

Um zu testen, ob dieser vermutete Saugeffekt auftritt, wurden mit Sulfobernsteinsäureditetradecylester (48) im alkalischen Milieu ($\text{pH}=8$) Vesikel hergestellt. Nach dem Zusammengeben von Porphyrin- und Vesikellösung brachte man die Lösung außerhalb

der Vesikelmembran durch Zugabe von Salzsäure schnell auf einen pH-Wert von 5, bei dem sich das Porphyrin in der Membran lösen, durch diese hindurchdiffundieren und sich in dem alkalischen Innenvolumen (Region 9) lösen sollte. Das Außenvolumen muß möglichst schnell wieder auf den gleichen pH-Wert wie das Innenvolumen gebracht werden, weil die Vesikel sonst platzen (osmotische Eigenschaften) ⁴⁹⁾.

Als Nachweis, in welcher Region sich das Porphyrin befindet, sollte die Reaktion mit Zinkacetat dienen. Befindet sich das Porphyrin im Außenvolumen (Region 1), müßte es sofort zum Zinkkomplex reagieren, was durch einen Kontrollversuch sichergestellt wurde (vgl. Abb. 30, S. 48). Befindet sich das Porphyrin dagegen im Innenvolumen (Region 9) der Vesikel, sollte es nicht zur Bildung des Zinkkomplexes kommen. Entgegen dieser Annahme wurde doch die Bildung des Komplexes beobachtet, wenn auch sehr viel langsamer als im Kontrollversuch, wo die Reaktion ohne zeitliche Verzögerung quantitativ ablief. Bei dem im Innenvolumen vermuteten Porphyrin war der Zinkkomplex erst nach etwa eineinhalb Stunden quantitativ entstanden, wie die elektronenspektroskopische Verfolgung der Reaktion zeigte (vgl. Abb. 31). Andererseits ist ein Eindringen des solvatisierten Zinkions in die Membran wegen seiner Größe unwahrscheinlich. Der beobachtete Effekt könnte auch auf eine pH-Differenz bei den Versuchen zurückzuführen sein.

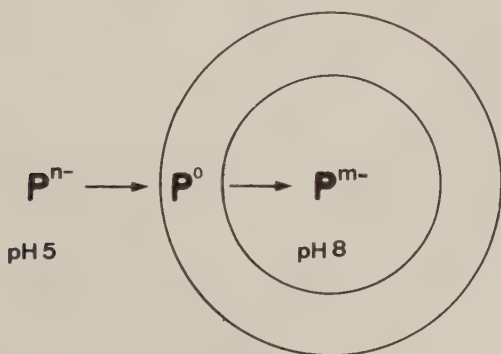
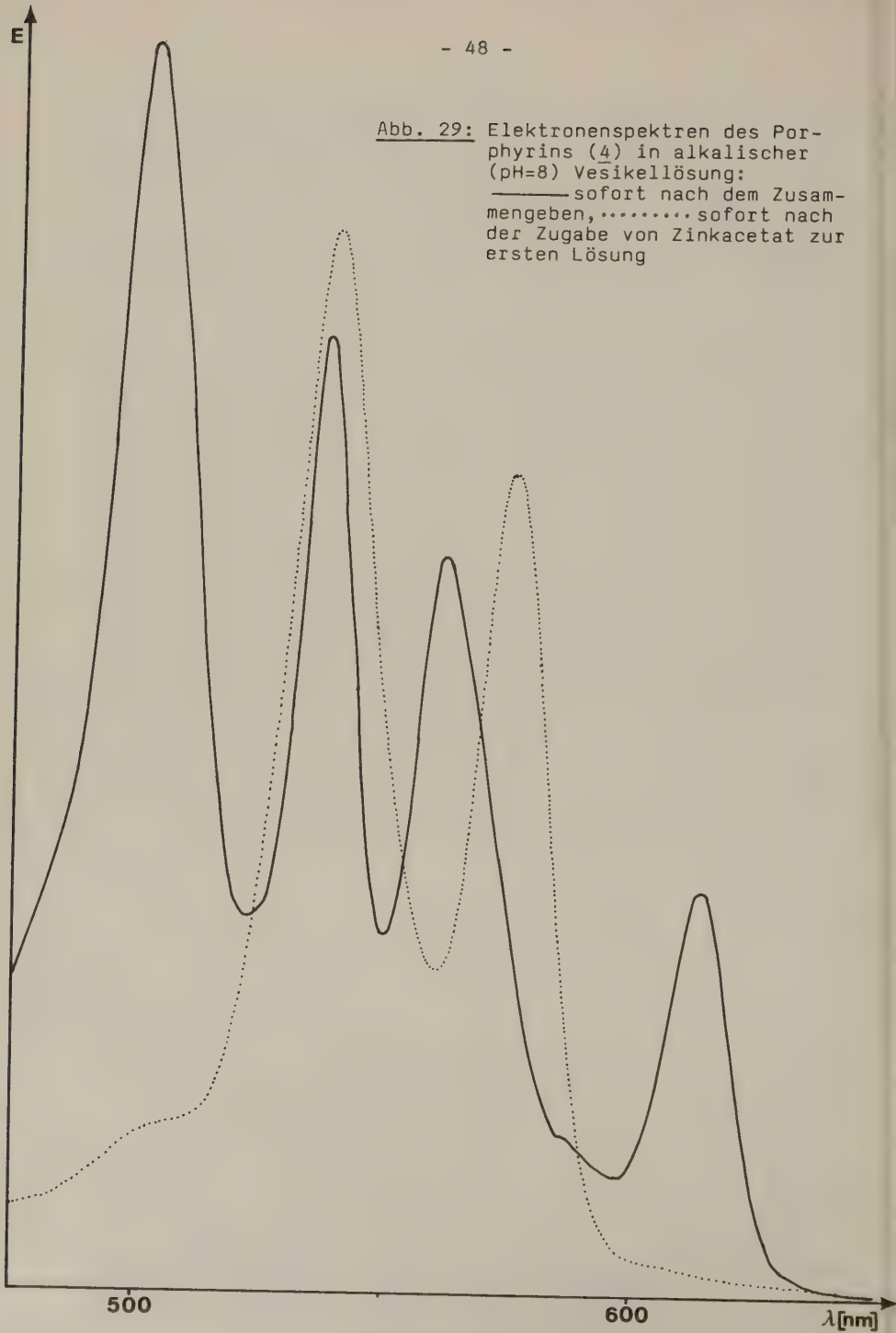


Abb. 29: Schematische Darstellung der Anreicherung des Porphyrins (4) im Vesikelinnenvolumen. Der pH-Wert des Außenvolumens wurde auf pH=5 gebracht, das Porphyrin löst sich in der Membran und wird von dem alkalischen Milieu des Innenvolumens durch die Membran "gesaugt".

Abb. 29: Elektronenspektren des Porphyrins (4) in alkalischer (pH=8) Vesikellösung:
— sofort nach dem Zusammengeben, sofort nach der Zugabe von Zinkacetat zur ersten Lösung



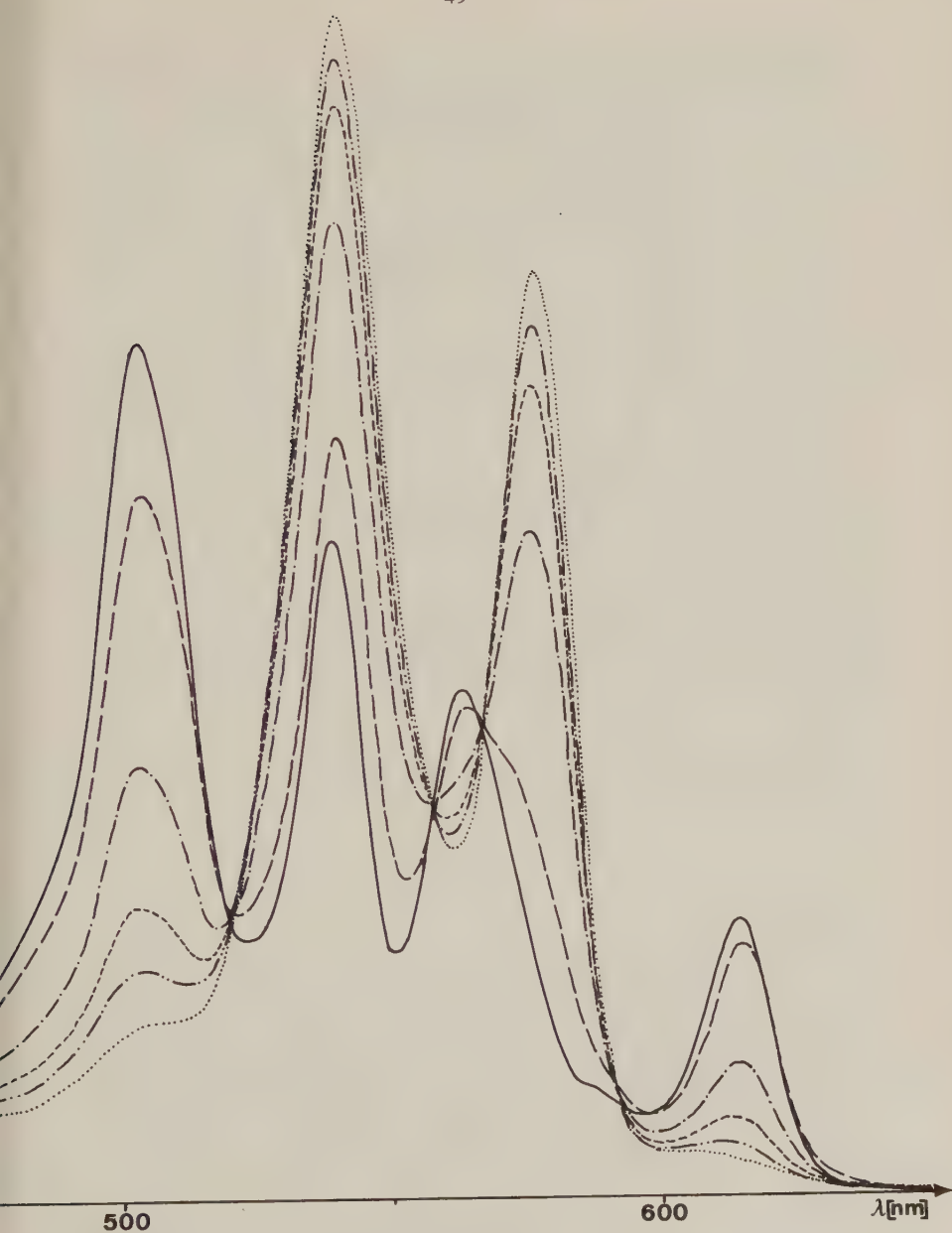


Abb. 31: Elektronenspektren in wäßriger Lösung zu dem Anreicherungsversuch (S. 46): — sofort nach Zugabe des Zinkacetats, — nach 30 Sek., — nach 13 Min., — nach 28 Min., — nach 43 Min., nach 88 Min.

Da die Reaktion mit Zink keinen eindeutigen Beweis dafür erbrachte, daß sich das Porphyrin im Innenvolumen (Region 9) der Vesikel befindet, wurde versucht, ihn mittels Chromatographie an Sephadex zu erbringen.

Fall 1: beim Zusammengeben von Vesikel- und Porphyrinlösung (beide pH=8) müßte sich eine Trennung erreichen lassen, während, im Fall 2, Vesikel und Porphyrin, bei gelungenem "Einsaugen" des Porphyrins in das Innenvolumen, zusammen von der Säule eluiert werden müßten.

Da wegen der leichten Ausfällbarkeit der Vesikelsubstanz (48) wiederum keine Pufferlösung verwendet werden konnte, eluierte man mit Wasser, das mit Natronlauge auf pH=8 eingestellt worden war. Unter den gegebenen Bedingungen konnte im Fall 1 keine Trennung von Vesikel und Porphyrin erreicht werden, desgleichen nicht mit Sepharose als Säulenmaterial und auch nicht für den Zinkkomplex des Porphyrins. Für den Fall 2 (Porphyrin im Vesikelinnern vermutet) ließen sich zwar Vesikel und Porphyrin in einer Fraktion eluieren, was aber wegen der negativen Ergebnisse für Fall 1 keinen Aussagewert hat.

Ungeklärt ist noch, inwieweit der pH-Gradient in ungepufferter Lösung, stabil ist, da bisher nur Untersuchungen über gepufferte Systeme existieren ⁵⁰⁾.

"Einsaugversuche" mit in Pufferlösungen stabilen Vesikellösungen ⁵¹⁾ wäre der nächste Schritt, würden jedoch den Rahmen der vorliegenden Arbeit sprengen.

Die langsame Bildung des Zinkkomplexes könnte folgendermaßen erklärt werden:

Das Oktaessigsäureporphyrin (4) ist insgesamt zu polar, um durch den unpolaren Teil der Vesikelmembran (Region 5) zu diffundieren. Die polaren Säuregruppen werden an der Membranoberfläche (Region 3, vgl. S. 4) festgehalten und nur der polare Porphyrinkern taucht ca. 3 Å in die Membran (vgl. Abb. 32) ein; er ist für Ionen immer noch erreichbar, so daß sich, wenn auch langsamer, der Zinkkomplex bildet.

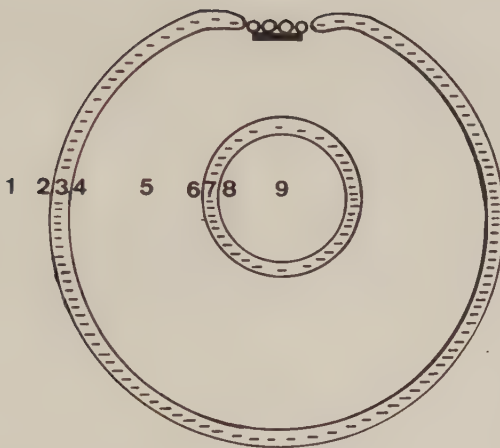


Abb. 32: Schematische Darstellung eines Ausschnittes einer Vesikelmembran (aus Substanz (48) mit eingelager-tem Porphyrin (4) (Seitenansicht des Porphyrinkerns mit vier der acht Carboxylgruppen) und Kennzeichnung der neun Vesikelregionen (vgl. S. 4)

5. Zusammenfassung

Das Oktaessigsäureporphyrin (4) konnte auf drei verschiedenen Wegen dargestellt werden. Das allen Synthesewegen gemeinsame Ausgangsmolekül ist das 2-Methyl-5-methoxycarbonyl-3,4-dimethoxycarbonylmethylpyrrol (10), das in drei Stufen, ausgehend von Citronensäure, gewonnen wurde.

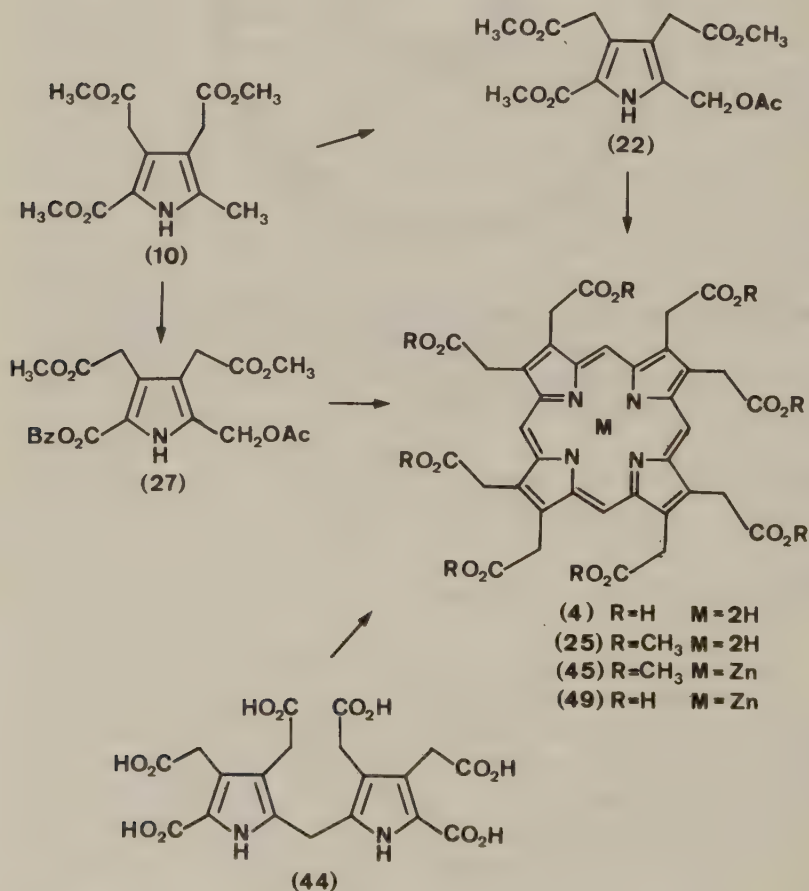


Abb. 32: Synthesewege zum Oktaessigsäureporphyrin (4), seines Esters (25) und den Zinkkomplexen (49) und (45)

Der erste Weg ist der kürzeste; man gelangt über das α -Acetoxymethylpyrrol (22) in 2 Stufen zum Oktaessigsäureporphyrin (4), das aber nur in Form seines Esters gereinigt werden kann, weshalb sich die Stufenzahl durch Veresterung und anschließende Hydrolyse auf 4 erhöht. Die Gesamtausbeute über diese Stufe beträgt 3,4%.

Der zweite Weg (S. 13) ist um zwei Stufen länger als der erste, aber die Gesamtausbeute (bezogen auf (10)) erhöht sich auf ca. 12%. Der Syntheseweg führt über die unter milderen Bedingungen zu spaltende Benzylesterverbindung (26) zunächst zum Oktaessigsäureporphyrin-oktamethylester (25) und dann zur freien Säure (4).

Der dritte Weg (S. 20) umfaßt 5 Stufen. Wie im ersten Weg wird zunächst das α -Acetoxymethylpyrrol (22) hergestellt, das nach Dimerisierung zum Pyrromethan (43) wiederum zum Porphyrin (4) dimerisiert wird. Die Gesamtausbeute (bezogen auf (10)) ist nach Veresterung (zur Reinigung unerlässlich) und Hydrolyse mit 5% zwar nur halb so groß wie beim zweiten Syntheseweg, aber der präparative Aufwand ist erheblich geringer.

Mit Hilfe von 5,5'-Dimethoxycarbonyl-3,3',4,4'-tetramethoxycarbonylmethylpyrromethan (33), als erstmals synthetisierten Modellsubstanz, konnte durch Datenvergleich belegt werden, daß das α -Acetoxymethylpyrrol (22) stabil genug ist, um nicht schon bei der Herstellung zu dimerisieren (S. 15).

Durch die Synthese des 3,3',4,4'-Tetramethoxycarbonylmethyl-5,5'-dimethylpyrromethans (42), das im Rahmen dieser Arbeit zum ersten Mal dargestellt wurde, konnte durch Vergleich der Elektronenspektren wahrscheinlich gemacht werden, daß das Konjugationssystem der Pyrromethene in den Nebenprodukten der Zyklisierung zum Porphyrin auftritt (S. 18).

Der Oktaessigsäureporphyrin-oktamethylester (25) konnte mit guter Ausbeute zum Zinkkomplex (45) umgesetzt werden (S. 22), aus dem sich mit Eisen III-perchlorat das Kationradikal erzeugen ließ (S. 27).

Weder der Oktaessigsäureporphyrin-oktamethylester (25) noch sein Zinkkomplex (45) ließen sich in der Seitenkette bromieren. Zwar wurde mit Hilfe der Elektronenspektroskopie deutlich, daß eine Reaktion stattfindet, die jedoch reversibel ist (S. 22). Die Existenz des α -Monoanions des Porphyrin-Zinkkomplexes konnte anhand des Elektronenspektrums wahrscheinlich gemacht werden (S. 26). Das gleiche gilt für die Bildung des isozyklischen Ringes (S. 30) bei der Reaktion von Oktaessigsäureporphyrin-oktamethylester (25) mit Oleum, wenngleich das Produkt nicht isoliert werden konnte. Die Elektronenspektren von Oktaessigsäureporphyrin (4) und seines Zinkkomplexes (49) in verschiedenen Pufferlösungen zeigen deutliche Unterschiede in den Bandenverhältnissen (S. 32 und 35).

Anhand der Elektronenspektren sind starke Unterschiede bei der Titration des Oktaessigsäureporphyrins (4) mit Salzsäure in

- a) micellarer Lösung
- b) Vesikellösung mit positiven Kopfgruppen und
- c) Vesikellösung mit negativen Kopfgruppen festzustellen.

zu a) Es bildet sich das Monokation (vgl. Abb. 24, S. 37) des Oktaessigsäureporphyrins (4) und bei weiterer Säurezugabe fällt das Porphyrin aus.

zu b) Für die Vesikelbildung wurde 3,5-Dicarbo-n-hexadecyloxyphenyl-trimethylammoniumjodid (47) verwendet. Beim Zusammengeben von Vesikel- und Porphyrinlösung fallen die Substanzen, vermutlich wegen der ionischen Wechselwirkungen aus. Durch erneutes Beschallen geht alles wieder in Lösung. Bei der Titration mit Salzsäure erhält man kein Kation. Die Intensitäten der vier Banden im sichtbaren Bereich nehmen kontinuierlich ab (S. 38).

zu c) Für die Vesikelbildung wurde das Natriumsalz des Sulfobernsteinsäureditetradecylesters (48) eingesetzt. Wie in micellarer Lösung erhält man bei der Titration zunächst das Monokation (vgl. Abb. 26a, S. 41), jedoch fällt die Substanz bei weiterer Säurezugabe nicht aus, sondern es erscheint im Elektronenspektrum erneut ein

vierbandiges Spektrum mit etwas verschobenen Maxima (vgl. Abb. 26b, S. 42). Am auffälligsten ist die Verschiebung der längstwelligen Bande von 613 zu 635 nm. Bei Zugabe von Natronlauge zeigt sich, daß die Reaktion reversibel ist. Weitere Säurezugabe dagegen führt letztlich zur Ausfällung des Porphyrins (4). Das beobachtete Phänomen haben wir dahingehend interpretiert, daß sich das Porphyrin, durch die Säurezugabe elektroneutral geworden, in der Membran (Region 4, vgl. Abb. 4) löst. Für die unpolare Umgebung spricht auch die Bandenverschiebung zu 625 nm, denn die längstwellige Bande des Oktaessigsäureporphyrin-oktamethylesters (25) gemessen in Chloroform liegt bei 626,5 nm.

Außerdem wurde noch durch Schaffung eines pH-Gradienten versucht, das Oktaessigsäureporphyrin (4) im Vesikelinnenvolumen (Region 9) anzureichern (S. 46). Da sich aber nach Zugabe von Zinkacetat der Zinkkomplex des Porphyrins (4) bildete, ist es sehr wahrscheinlich, daß das Porphyrin unter den gegebenen Bedingungen nicht in das Innenvolumen der Vesikel diffundiert ist. Auch bei der Säulenchromatographie an Sephadex bzw. Sepharose ließ sich kein Nachweis dafür erbringen, daß sich das Porphyrin im Innenvolumen der Vesikel befindet.

6. Experimenteller Teil

Die Schmelzpunkte wurden mit einem Kofler-Heizmikroskop der Fa. Reichert bestimmt und sind nicht korrigiert.

Zur Aufnahme der Elektronenspektren diente das Gerät Cary 17 D der Fa. Varian oder das Spektralphotometer Acta M VI der Fa. Beckman. Soweit nicht anders vermerkt, wurden 10 mm Küvetten (Fa. Helma) verwendet.

Die IR-Spektren wurden mit einem Perkin Elmer IR 257 Spektrometer aufgenommen.

Die ^1H -NMR-Spektren wurden mit einem XL-100 Spektrometer der Fa. Varian oder einem WH 270 Spektrometer der Fa. Bruker aufgenommen. Die δ -Werte beziehen sich auf TMS als inneren Standard. Zur Aufnahme des ^{13}C -NMR-Spektrums diente ein FT 80 NMR-Gerät der Fa. Varian. Die δ -Werte sind bezogen auf das Signal des Lösungsmittels (D_6 -DMSO: 36,9 ppm).

Zur Aufnahme der Massenspektren dienten die Geräte 112 S und MAT 711 Massenspektrometer der Fa. Varian-MAT.

Die Elementaranalysen wurden im mikroanalytischen Labor des Instituts für Organische Chemie der FU-Berlin durchgeführt.

Zur Dünnschichtchromatographie verwendete man Aluminiumfolien mit 0,2 mm Kieselgel 60 der Fa. Merck.

Für die Säulenchromatographien verwendete man Kieselgel der Fa. Woelm, neutrales Aluminiumoxid der Aktivität III der Fa. Woelm, Sephadex G und Sepharose 4 B der Fa. Pharmacia.

Die benutzten Pufferlösungen entstammen der Fa. Merck.

Zur Herstellung der Vesikel wurde ein Ultraschallgerät der Fa. Heat Systems-Ultrasonics Model W-220 F verwendet.

An dieser Stelle möchte ich mich bei den Damen und Herren der Meßabteilungen für die Aufnahme der Spektren herzlich bedanken.

Ebenfalls danken möchte ich den Studenten des Fortgeschrittenen Praktikums des Instituts für Organische Chemie der FU-Berlin, die das Oktaessigsäureporphyrin oder Teile der Synthese nachgekocht haben.

6.1. Erster Weg zum Porphyrin

6.1.1. Acetondicarbonsäure-dimethylester (8a) ¹⁵⁾

Zu 348 g ($\hat{=}$ 200 ml, 3 mol) Chlorsulfonsäure wurden 192 g (1 mol) gemörserte, wasserfreie Citronensäure in kleinen Portionen zugegeben. Die Temp. sank und starke Gasentwicklung war zu beobachten. Nach beendeter Zugabe der Citronensäure wurde das Reaktionsgemisch auf 20°C gebracht und bis zum Ende der Gasentwicklung weitergerührt. Unter Kühlung wurden dann 600 ml absolutes Methanol so zugetropft, daß die Innentemp. nicht über 35°C stieg. Nach beendeter Zugabe wurde noch 2 h bei 30°C gerührt (oder bei Raumtemp. über Nacht stehengelassen) und dann wie folgt aufgearbeitet: nach Zugabe von 300 ml Chloroform und etwa 800 g Eis, isolierte man die organische Phase, die wäßrige Phase wurde noch zweimal mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten Chloroformphasen wurden durch Ausschütteln mit Wasser auf pH=7 gebracht, getrocknet (Na_2SO_4) und filtriert. Nach Abziehen des Lösungsmittels destillierte man den Rückstand.

Ausbeute: 120-140 g (0.69 - 0.8 mol) $\hat{=}$ 69-80%

Siedebereich: 134-136°C bei 12mm

Brechungsindex: $n_D^{20} = 1.4539$ ¹⁶⁾

IR (Film): 1741 cm^{-1} (b, C=O der Carbonyl- und Estergruppen)

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): a) Ketoverbindung $\delta = 3.66$ (s, 4H, 2H an C-2 bzw. C-4), 3.76 ppm (s, 6H, CH_3 der Estergruppen). b) Enolverbindung $\delta = 3.28$ (s, 2H, an C-4), 3.76 (s, 6H, CH_3 der Estergruppen), 5.19 ppm (1H, an C-2). Das Proton der OH-Gruppe ist nicht zu sehen. Aus den Integralen ergibt sich ein Verhältnis der Keto- zur Enolverbindung von 3:1.

MS: m/e = 174 (3%, M^+), 143 (25%, M- OCH_3), 142 (25%, M- HOCH_3), 101 (100%, M- $\text{CH}_2\text{COOCH}_3$).

$\text{C}_7\text{H}_{10}\text{O}_5$	(174.15)	Ber. C 48.28	H 5.75
		Gef. C 48.20	H 5.76

6.1.2. 3-Acetyl-4-methoxycarbonylmethyl-5-methoxycarbonyl-2-methylpyrrol (9)^{11,20)}

Zu 87 g (0.5 mol) Acetondicarbonsäure-dimethylester (8a) wurde 1 ml konzentrierte Salzsäure gegeben und unter Rühren und Kühlung auf 20°C 59 g (0.5 mol) Isopentylnitrit zugetropft. (Manchmal entstand bei diesem Teil der Reaktion ein Nebenprodukt (17), das aus dem öligen Reaktionsgemisch unter Entwicklung nitroser Gase als weißer, kristalliner Niederschlag ausfiel. Er wurde abgesaugt und mit wenig Eisessig nachgewaschen. Das Filtrat wurde weiterverwendet.)

Nach 4 h wurde das entstandene Oxim unter Rühren zu einem Gemisch aus 50 g (0.5 mol) Acetylaceton, 300 g Eisessig, 70 g Ammoniumacetat und 30 g Zinkstaub getropft. Die Reaktionstemperatur hielt man durch Kühlung bei etwa 60°C. Während des Zutropfens wurden weitere 75 g Zinkstaub in kleinen Portionen zugegeben und hinterher noch 1 h bei 60°C gerührt. Vom Zink dekantierte man das Reaktionsgemisch in 3 l Wasser/ Eis, dem fast bis zur Sättigungsgrenze Kochsalz zugesetzt war. Nach Stehen über Nacht wurde der Niederschlag abgesaugt, mit Ether gewaschen und aus Methanol/ Ether umkristallisiert.

Ausbeute: 26-51 g (0.1-0.2 mol) $\hat{=}$ 20-40%

Schmelzbereich: 136-139°C (Lit. [11] : 141°C) lt. GC 96% rein
DC (Laufmittel Ether): $R_f = 0.4$

IR (KBr): 3285 (NH), 1730 (C=O des Esters in Seitenkette), 1670 (C=O des Esters an C-5), 1644 cm^{-1} (Acetyl-C=O).

UV (CHCl_3): λ_{max} (ϵ) = 280 (12300), 257 (9800), 239 nm (10300).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 2.40 (s, 3H, CH_3 an C-2), 2.49 (s, 3H, CO-CH_3), 3.74 (s, 3H, Ester an C-4), 3.84 (s, 3H, Ester an C-5), 4.22 (s, 2H, CH_2 an C-4), 9,70 ppm (1H, Pyrrol-NH).

MS: m/e = 253 (18%, M^+), 221 (42%, $\text{M-CH}_3\text{OH}$), 210 (19%, M-COCH_3), 194 (26%, $\text{M-CO}_2\text{CH}_3$), 43 (100%, COCH_3).

$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_3$	(253.3)	Ber. C 56.92	H 5.93	N 5.53
		Gef. C 56.81	H 6.18	N 5.40

Daten des Nebenproduktes 4-Hydroxyisoxazol-3,5-dicarbonsäure-dimethylesters (17)⁵²⁾

Ausbeute: 0-3%

Schmelzpunkt: 157°C

IR (KBr): 3380 (O-H assoziiert), 1745 und 1735 (C=O der Ester), 1710 (C=N), 1623 cm^{-1} (C=C).

UV (Aceton): λ_{max} (E) = 346 nm (200)

$^1\text{H-NMR}$ (D_6 -DMSO): δ = 3.87 und 3.90 ppm (s,s,3H,3H, CH_3 der Ester).

$^{13}\text{C-NMR}$ (D_6 -DMSO): (Multiplizität aus "off-resonance"-Spektrum)
 δ = 52 (q, J_{CH} = 70 Hz; Ester- CH_3), 53 (q, J_{CH} = 70 Hz; Ester- CH_3),
 143 (s, O-C=C), 144 (s, O-C=C), 149.5 (s, C=N), 157 (s, COOCH_3),
 159 ppm (s, COOCH_3).

MS(CI): m/e = 202 (100%, M+H)

MS(EI): m/e = 201 (5%, M^+), 171 (13%, M-O CH_3), 86 (100%).

$\text{C}_7\text{H}_7\text{NO}_6$	(201.14)	Ber.	C 41.80	H 3.51	N 6.96
		Gef.	C 41.62	H 3.54	N 6.86

6.1.3. 5- Methoxycarbonyl-3,4-dimethoxycarbonylmethyl-2-methylpyrrol (10) ¹⁹⁾

25.3 g (0.1 mol) des in der Vorstufe hergestellten Pyrrols (9) wurden in 250 ml Methanol p.a. gelöst. Dazu gab man eine Lösung von 46 g (0.104 mol) ThalliumIII-nitrat-Trihydrat und 5 ml 65%ige Salpetersäure in 250 ml Methanol p.a. und ließ 24 h bei Raumtemp. rühren. Schon nach kurzer Zeit begann Thallium I-nitrat auszufallen.

Nach dünnschichtchromatischer Überprüfung des vollständigen Umsatzes wurde wie folgt aufgearbeitet: Niederschlag (TlNO_3) abgesaugt und mit wenig Methanol gewaschen, Filtrat mit Wasser verdünnt und dreimal mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten Chloroformphasen wurden mehrmals mit Wasser gewaschen (bis der pH neutral ist), getrocknet (Na_2SO_4) und zur Trockene eingengt. Den öligen Rückstand nahm man in Ether auf und je nach Reinheitsgrad kristallisierte das Produkt sofort aus, oder erst nach Zugabe von Petrolether.

Ausbeute: 23.4 g (0.083 mol) $\hat{=}$ 83%

Schmelzpunkt: 93°C

DC (Ether): R_f = 0.8

IR (KBr): 3300 (NH-Pyrrol), 1740, 1725 (C=O der Ester in Seitenkette), 1678 cm^{-1} (C=O Ester an C-5).

UV (CHCl_3): λ_{max} (E): 278 (16700), 243 nm (4400).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 2.23 (s, 3H, CH₃ an C-2), 3.40 (s, 2H, CH₂ an C-3), 3.65 (s, 3H, CH₃ des Esters an C-3), 3.68 (s, 3H, CH₃ des Esters an C-4), 3.80 (s, 3H, CH₃ des Esters an C-5), 3.86 (s, 2H, CH₂ an C-4), 9.16 ppm (1H, Pyrrol NH).

MS: m/e = 283 (48%, M⁺), 251 (71%, M-CH₃OH), 224 (68%, M-CO₂CH₃), 223 (100%, 251-CO), 192 (25%, 223-OCH₃), 191 (36%, 223-CH₃OH), 164 (40%, 191-CO).

C ₁₃ H ₁₇ NO ₆	(283.2)	Ber. C 55.12	H 6.01	N 4.95
		Gef. C 55.04	H 6.00	N 4.94

6.1.4 2-Acetoxymethyl-5-methoxycarbonyl-3,4-dimethoxycarbonyl-methylpyrrol (22)¹³⁾

14.2 g (0.05 mol) des α-Methylpyrrols (10) wurden in einem Gemisch aus 470 ml Eisessig und 30 ml Essigsäureanhydrid gelöst und unter Rühren portionsweise mit 25 g (ca. 0,05 mol) 10% eisessigsäurem Bleitetraacetat⁵³⁾ versetzt. Das Reaktionsgemisch erhitzte man auf 100°C und hielt es 2h bei dieser Temperatur. Aufarbeitung: Essigsäure abgezogen, Rückstand mit Chloroform und Wasser versetzt. Wäßrige Phase abgetrennt und mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt. Vereinigte Chloroformphasen zweimal mit Wasser ausgeschüttelt, getrocknet, filtriert und zur Trockene eingengt. Der Rückstand wurde zweimal aus Toluol umkristallisiert. Die Reinheit der Substanz wurde mittels HPLC überprüft. (Zersetzung bei GC)

Ausbeute: 11.9 g (0.035 mol) $\hat{=}$ 70%

Schmelzbereich: 115-122°C

DC (Ether): R_f = 0.7

IR (KBr): 3280 (NH-Pyrrol), 1725 und 1670 cm⁻¹ (C=O der Ester).

UV (MeOH): λ_{max} (ε) = 272.5 (6800), 207 nm (7700).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 2.08 (s, 3H, CH₃ der Acetoxygruppe), 3.54 (s, 2H, CH₂ an C-3), 3.68 (s, 3H, CH₃ des Esters in Seitenkette an C-3), 3.70 (s, 3H, CH₃ des Esters in Seitenkette an C-4), 3.85 (s, 3H, CH₃ des Esters an C-5), 3.90 (s, 2H, CH₂ an C-4), 5.11 (s, 2H, CH₂ an C-2), 9.48 ppm (1H, Pyrrol-NH).

MS: m/e = 341 (22%, M⁺), 282 (66%, M- OOCCH₃), 281 (100%, M- HOOCCH₃), 249 (43%, 281- CH₃OH).

C ₁₅ H ₁₉ NO ₈	(341.30)	Ber. C 52.79	H 5.58	N 4.10
		Gef. C 52.79	H 5.54	N 4.12

6.1.5. 5-Hydroxycarbonyl-3,4-dihydroxycarbonylmethyl-2-hydroxymethylpyrrol (23)

Methode A ¹³⁾: Das α -Acetoxymethylpyrrol (22) wurde mit Kaliumhydroxid in methanolischer Lösung 4 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Entfernung des Methanols löste man den Rückstand in Wasser und neutralisierte das überschüssige KOH mit verdünnter Salzsäure. Bei weiterer Zugabe von Säure zeigte sich bis zum pH=2 kein Niederschlag, auch nach Kühlung nicht. Deshalb wurde bei der Wiederholung dieses Versuches wie folgt vorgegangen: nach Zugabe von Säure bis zu einem pH von 4 wurde das Methanol abgezogen, der Rückstand getrocknet und in der nächsten Stufe eingesetzt.

Methode B ¹¹⁾: Das Pyrrol (22) wurde in wenig 2M KOH-Lösung gegeben und bei Raumtemp. unter Stickstoffatmosphäre 4 Tage hydrolysiert. Nach Zugabe von 2 M Salzsäure bis zu pH=5 entfernte man das Wasser mittels Gefriertrocknung.

Methode B': wie B, jedoch ohne Luftausschluß.

Methode B'': wie B, jedoch ohne Luft- und Lichtausschluß.

Methode C: Das Pyrrol (22) wurde in 2M Kalilauge unter Stickstoffatmosphäre in der Siedehitze hydrolysiert. Reaktionsdauer 3 h. Keine Aufarbeitung.

Methode D ⁵⁴⁾: Das Pyrrol (22) löste man unter Durchleiten von Stickstoff in 0.1M KOH und kochte die Lösung 1 h unter Rückfluß. Keine Aufarbeitung.

Die quantitativen Ansätze sind der Tabelle 1 (S. 65) zu entnehmen.

6.1.6. Versuchte Darstellung des 3,4-Dihydroxycarbonylmethyl-2-hydroxymethylpyrrol (24)

(Decarboxylierung der Säuregruppe in Position 5 der Substanz (23))

Methode A ¹³⁾: Die nach Methode A hergestellte Substanz (23) wurde 1 h in Eisessig gekocht. Keine Isolierung.

Methode B ¹¹⁾: Das nach Methode A erhaltene Pyrrol (23)-Salz-Gemisch wurde 20 Min. in Trifluoressigsäure unter Rückfluß gekocht. Nach Entfernung der Trifluoressigsäure durch Destilla-

tion trocknete man den Rückstand über KOH.

Methode C⁵⁵⁾: Die nach Methode A dargestellte Substanz (23) wurde in ein auf 200°C erhitztes Metallbad eingebracht und 30 Min. bei dieser Temp. gerührt.

Methode D: Versetzen der Rückstände oder Lösungen mit 2N HCl und 1-4 h kochte man das Reaktionsgemisch unter Rückfluß. Keine Isolierung.

Methode E: Zu dem nach Methode B' erhaltenem Pyrrol (23) wurde konz. Schwefelsäure gegeben, worauf sofortige Gasentwicklung eintrat.

Methode F²⁶⁾: Die nach der Methode D erhaltene Substanz (23) versetzte man mit 47% HBr und Ameisensäure. In Stickstoffatmosphäre kochte man das Reaktionsgemisch 4 h unter Rückfluß. Keine Isolierung.

Die quantitativen Ansätze sind der Tabelle 1 (S. 65) zu entnehmen.

6.1.7. 1,2,3,4,5,6,7,8-Oktaessigsäureporphyrin (4)

Methode A¹³⁾: Die Zyklisierung zum Porphyrin erfolgte im gleichen Reaktionsgemisch wie die Decarboxylierung (s. 6.1.6.A). Die Oxidation wurde durch Zugabe von Hexacyanoferrat (III) erreicht. Nach dem Rückflußkochen engte man die Lösung zur Trockene ein und trocknete den Rückstand im Exsikkator über P_2O_5 / KOH.

Methode B¹¹⁾: Der Rückstand der Vorstufe (s. 6.1.6.B) wurde in 0.5M Salzsäure gelöst und 30 Min. unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen der Lösung saugte man für 30 Min. Luft durch die Lösung, um die Oxidation zum Porphyrin zu vervollständigen. Durch Zugabe von Natriumacetat wurde der pH-Wert auf 3.5 abgepuffert, worauf ein schwarz-roter Niederschlag ausfiel, der durch Zentrifugation oder Filtration isoliert wurde. Trocknen i. Vak. über P_2O_5 .

Methode C: Das nach der Methode C erhaltene Produkt (24) wurde mit 1M Salzsäure übergossen und 30 Min. unter Rückfluß gekocht. Da die Lösung nicht fluoreszierte und im Elektronenspektrum keine Soret-Bande zu sehen war, wurde der Ansatz verworfen.

Methode D: Gleiches Reaktionsgemisch wie Methode D, der zum Produkt (24) führenden Reaktionen. Zur Vervollständigung der Oxidation zum Porphyrin wurde ca. 1 h Luft durch die Lösung gesaugt. Ausfällung des Porphyrins durch Zugabe von 2M KOH. Die Farbe der Lösung wechselte von rot zu rot-braun. Den Niederschlag isolierte man durch Zentrifugation oder Absaugen. Trocknen über P_2O_5 .

Methode E: Die Zyklisierung erfolgte im gleichen Milieu, wie in der zum Produkt (24) führenden Methode E. Keine Isolierung.

Methode F: Die Zyklisierung erfolgte in dem gleichen Reaktionsgemisch wie in der zum Pyrrol (24) führenden Methode F beschrieben wurde. Vervollständigung der Oxidation: 10 h Luft durch die Lösung gesaugt. Ausfällung durch Zugabe von 2M KOH. Niederschlag abgesaugt und über P_2O_5 getrocknet.

ES (0.01M NaOH): I 613 < II 562 < III 538 < IV 502 << Soret-Bande 399 nm.

Ein quantitatives Elektronenspektrum war an dieser Stelle nicht sinnvoll, da die Substanz einen hohen Anteil an Nebenprodukten enthielt. Nach Umfällung (Lösen in 2M NaOH, erneutes Ausfällen mit 2M HCl) erhöhte sich der Extinktionskoeffizient bei 399 nm nicht.

1H -NMR (D_6 -DMSO): δ = 5.18 (s, 16H, 8CH₂-Gruppen
10.45 ppm (s, 4H, Methinprotonen).

Nebenprodukt: 3,42 ppm (sehr breit)

6.1.8. 1,2,3,4,5,6,7,8 -Oktaessigsäureporphyrin-oktamethylester (25) *

Methode A: Das erhaltene Gemisch aus Porphyrin (4) und Nebenprodukten (einschließlich Salzen) wurde in Methanol, das 5% (w/v) Schwefelsäure enthielt, gelöst und 24 h bei Raumtemp. stehengelassen. Aufarbeitung: Zugabe von Chloroform und eisgekühltem Wasser, schnelles Abpuffern mit $NaHCO_3$. Abtrennen der Chloroformphase, zweimaliges Ausschütteln mit Wasser, Trocknen mit Na_2SO_4 , filtrieren. Nach Einengen der Chloroformphase wurde der Porphyrinester durch Zugabe von Methanol ausgefällt.

Methode B: Das Oktaessigsäureporphyrin (4) wurde in 10% salzsaurem Methanol gelöst und 24 h bei Raumtemp. stehen lassen.

Nach Abziehen des Lösungsmittels kristallisierte man aus Chloroform/ Methanol um.

Methode C: Niederschlag gelöst in Methanol mit 10% Wasser (sehr schlechte Löslichkeit) und Diazomethan zugegeben bis sich keine Gasentwicklung mehr zeigte. Aufarbeitung s. Methode A.

Allgemeines: Nach Säulenchromatographie an Al_2O_3 (Grad V) mit Chloroform als Laufmittel, wurde die Lösung eingeeengt und das Porphyrin mit Methanol ausgefällt.

Schmelzpunkt $> 350^\circ C$

DC (Chloroform/ 8% Methanol): Porphyrin $R_f = 0.8$

Nebenprodukt $R_f = 0.3$

ES ($CHCl_3$): λ_{max} (E) = 626.5 (3200), 597 Schulter (1500), 572 (6500), 533 (7762), 500.5 (15994), 405 (216297), 370 nm Schulter (48163) etc.

IR (KBr): 3450 (NH), 1735 cm^{-1} (C=O der Estergruppen).

1H -NMR ($CDCl_3$): $\delta = -3.52$ (s, 2H, NH), 3.78 (s, 24H, CH_3 der Ester), 5.20 (s, 16H, CH_2 der Seitenketten), 10.30 ppm (s, 4H, Methinprotonen).

1H -NMR (CF_3COOD): $\delta = 3.84$ (s, 24H, CH_3 der Ester), 5.59 (s, 16H, CH_2 der Seitenketten), 11.40 ppm (s, 4H, Methinprotonen).

MS: m/e: 886 (100%, M^+), 828 (96%, $M - COOCH_3 + H$), 827 (41%, $M - COOCH_3$), 770 (71%, $M - 2COOCH_3 + 2H$), 768 (31%, $M - 2COOCH_3$), 712 (63%, $M - 3COOCH_3 + 3H$), 709 (21%, $M - 3COOCH_3$), 654 (34%, $M - 4COOCH_3 + 4H$), 650 (31%, $M - 4COOCH_3$), 591 (43%, $M - 5COOCH_3$), 533 (34%, $M - 6COOCH_3 + H$), 480 (20%, $M - 7COOCH_3 + 7H$), 622 (66%, $M - 8COOCH_3 + 8H$).

$C_{44}H_{46}N_4O_{16}$	(886.9)	Ber. C 59.59	H 5.22	N 6.32
		Gef. C 59.70	H 5.45	N 6.36

Tabelle 1 : Reaktionsfolgen zum Oktaessigsäureporphyrin-oktamethylester (25)

Ansatz Subst. 22	6.1.5. Hydrolyse	6.1.6. Decarboxylierung	6.1.7. Zyklisierung	Roh- Ausbeute	6.1.8. Veresterung	Ausbeute
1.7 g 5 mmol	Methode A 3g KOH+45ml MeOH	50 ml Eisessig+100mg K ₃ FeCN ₆	Methode A	? Produkt/ Salz-Ge- misch	Methode A 500ml MeOH+ 14ml H ₂ SO ₄	54 mg ± 4.9%
1.7 g 5 mmol	Methode A S.O.	Methode B 25 ml TFE	Methode B 30ml 0,5M HCL	420 mg	S.O.	67 mg ± 6%
1.7 g 5 mmol	Methode A S.O.	Methode C 200°C	Methode C 20ml 1M HCL	0 mg		
1.7 g 5 mmol	Methode A S.O.	Methode D 30 ml 2M HCL	Methode D	480 mg	S.O.	60 mg ± 5.4%
3.4 g 10 mmol	Methode B 30 ml 2M KOH	Methode D 30 ml 2M HCL	Methode D	640 mg	Methode A 700ml MeOH+ 19 ml H ₂ SO ₄	125 mg ± 5.6%
3.4 g 10 mmol	Methode B' 30 ml 2M KOH	Methode D 30 ml 2M HCL	Methode D	620 mg	S.O.	120 mg ± 5.4%
3.4 g 10 mmol	Methode B'' 30 ml 2M KOH	Methode D	Methode D	625 mg	S.O.	110 mg
1.7 5 mmol	Methode B' 15 ml 2M KOH	Methode E 15 ml H ₂ SO ₄	Methode E	—	+500ml MeOH	25 mg ± 2%
1.7 g 5 mmol	Methode C 60 ml 1M KOH	Methode F 13ml 47% HBr/10ml HCOOH	Methode F	480 mg	Methode A 500ml MeOH+ 14 ml H ₂ SO ₄	125 mg ± 11%

6.2. Zweiter Weg zum Porphyrin

6.2.1. 5-Benzoxycarbonyl-3,4 dihydroxycarbonylmethyl-2-methylpyrrol (11) ²⁰⁾

Zu einer Lösung von 2 g Natrium in 250 ml absolutem Benzylalkohol gab man 9 g (32 mmol) des Pyrrols (10) und unter Rühren erhitze man die Reaktionslösung auf 100°C, wobei sie sich gelb-braun verfärbte. Nach 1 h Erhitzen unter Normaldruck, wurde noch 3 h bei Wasserstrahlpumpenvakuum erhitzt, wobei das bei der Umesterung entstandene Methanol abdestillierte. Dann destillierte man bei zuletzt 2.5 Torr und 120°C Badtemp. den Benzylalkohol ab. Der braune Rückstand wurde mit 750 ml Wasser aufgenommen. Durch vorsichtiges Ausschütteln mit Ether (leichte Emulsionsbildung) entfernte man den restlichen Benzylalkohol. Das Produkt wurde durch langsame Zugabe von 10 proz. HCl ausgefällt, abgesaugt, getrocknet und ohne Umkristallisation (große Ausbeuteverluste) in der nächsten Stufe eingesetzt.

Ausbeute: 4.9 g (15 mmol) $\hat{=}$ 47%

Schmelzbereich: 210-222°C

MS: m/e= 331 (18%, M⁺), 287 (19%, M- CO₂), 242 (16%, 287-CO₂H), 240 (20%, M- CH₂C₆H₅), 196 (48%, 287- CH₂C₆H₅ bzw. 240- CO₂), 91 (100%, C₇H₇).

Der Molpek des Dibenzylesters (m/e= 421) tauchte mit 2% in dem Spektrum auf.

C₁₇H₁₇NO₅ (331.3)

6.2.2. 5-Benzylloxycarbonyl-3,4-dimethoxycarbonylmethyl-2-methylpyrrol (12) ²⁰⁾

4.9 g (15 mmol) Pyrrol (11) wurden in 500 ml Methanol gelöst, das 10 proz. HCl enthielt. Nach 12 h Stehen bei Raumtemp. im Dunkeln engte man die Lösung zur Trockene ein und kristallisierte den Rückstand aus Methanol um.

Ausbeute: 4.3 g (12 mmol) $\hat{=}$ 80%

Schmelzpunkt: 98°C

DC (Chloroform/ 10% Ether): $R_f = 0,7$

IR (KBr): 3301 (NH-Pyrrol), 1736, 1678 cm^{-1} (C=O der Ester).

UV (CHCl_3): λ_{max} (ϵ) = 280 (18600), 248 nm (4400).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 2.23 (s, 3H, CH_3 an C-2), 3.41 (s, 2H, CH_2 an C-3), 3.60 (s, 3H, CH_3 des Esters an C-3), 3.66 (s, 3H, CH_3 des Esters an C-4), 3.88 (s, 2H, CH_2 an C-4), 5.28 (s, 2H, CH_2 der Benzylgruppe), 7.38 (m, 5H, Aromaten-H), 9.04 ppm (1H, NH-Pyrrol).

MS: m/e = 359 (10%, M^+), 327 (9%, $\text{M} - \text{CH}_3\text{OH}$), 300 (9%, $\text{M} - \text{CO}_2\text{CH}_3$), 268 (30%, $\text{M} - \text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 235 (23%, $327 - \text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 207 (11%, $235 - \text{CO}$), 91 (100%, C_7H_7).

$\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_6$	(359.4)	Ber.	C 63.50	H 5.89	N 3.90
		Gef.	C 63.77	H 5.80	N 3.81

6.2.3. 2-Acetoxymethyl-5-benzylloxycarbonyl-3,4-dimethoxycarbonylmethylpyrrol (26) ²¹⁾

Zu 6 g (16.7 mmol) des 2-Methylpyrrols (12), gelöst in 170 ml Eisessig und 8.5 ml Acetanhydrid, wurden bei 40°C unter Rühren 8.7g (ca. 16.7 mmol) eisessigfeuchtes Bleitetraacetat⁵³⁾ gegeben und 12 h bei 40°C gerührt. Die Vollständigkeit der Reaktion wurde mittels DC (Chloroform/ 10% Ether) überprüft. Falls noch Edukt vorhanden war, gab man noch 1 g Bleitetraacetat hinzu und rührte das Reaktionsgemisch 1 h bei 50°C. Vor der Aufarbeitung nahm man eine Probe ab und prüfte durch Zugabe von Wasser auf Bleitetraacetat (brauner Niederschlag), bei dessen Auftreten man dem Reaktionsgemisch 2 ml Ethylenglykol¹⁸⁾ zusetzte. Zutropfen von Wasser fällte das Produkt, das nach Absaugen und Trocknen aus Toluol/ Petrolether umkristallisiert wurde.

Die Reinheit der Substanz wurde durch HPLC überprüft. Bedingungen: Säulenmaterial Si 60, Eluierungsmittel Methanol/ Wasser 1:1 .

Ausbeute: 4.5 g (11 mmol) $\hat{=}$ 65%

Schmelzbereich: 135-143°C

DC (Chloroform/10% Ether): R_f = 0.6

UV (CHCl_3): λ_{max} (ϵ) = 273 nm (16300).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 2.06 (s, 3H, CH_3 der Acetylgruppe), 3.52 (s, 2H, CH_2 an C-3), 3.60 (s, 3H, CH_3 des Esters an C-3), 3.66 (s, 3H, CH_3 des Esters an C-4), 3.88 (s, 2H, CH_2 an C-4), 5.08 (s, 2H, CH_2 an C-2), 5.30 (s, 2H, CH_2 der Benzylgruppe), 7.40 (m, 5H, Aromaten-H), 9.40 ppm (1H, NH-Pyrrol).

MS: m/e = 417 (3%, M^+), 358 (6%, $\text{M} - \text{CO}_2\text{CH}_3$), 357 (7%, $\text{M} - \text{HO}_2\text{CCH}_3$), 326 (5%, $\text{M} - \text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 284 (9%, $357 - \text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_3$), 266 (16%, $357 - \text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$), 252 (19%, $284 - \text{CH}_3\text{OH}$), 224 (16%, $252 - \text{CO}$), 91 (100%, C_7H_7).

MS (280°C): m/e = 714 (3%, $2 \times \text{M}^+ - 2 \times \text{CH}_3\text{COOH}$).

$\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_8$	(417.4)	Ber. C	60.43	H	5.55	N	3.36
		Gef. C	60.16	H	5.52	N	3.19

6.2.4. 1.2.3.4.5.6.7.8 -Oktaeessigsäureporphyrin-oktamethylester (25)²²⁾

2.5 g (6 mmol) des Benylesterpyrrols (26) löste man unter Durchleiten von Stickstoff in 150 ml Aceton, in dem man 75 mg des Katalysators Palladium/Kohle suspendiert hatte. Die Reaktionsmischung wurde 3 h bei 1 atm Wasserstoffüberdruck geschüttelt, worauf die Vollständigkeit der Reaktion mittels DC (Ether) überprüft wurde. War noch Edukt vorhanden, wurde nach Zugabe von 25 mg Katalysator noch weitere 2 h hydriert. Zur Isolierung des Pyrrols (27) trennte man den Katalysator durch Filtration ab und engte die Lösung zur Trockene ein. Ohne weitere Reinigung wurde 27 in 270 ml entgastem Eisessig gelöst und nach Zugabe von 130 mg para-Toluolsulfonsäure im Dunkeln (Alufolie) unter Inertgas (N_2) 1 h bei 100°C gerührt. Nach Abkühlung auf ca. 40°C tropfte man langsam eine Lösung von 0.22 ml (4.28 mmol $\hat{=}$ 95%) Brom in 30 ml Wasser und 20 ml Eises-

sig hinzu. Durch Zugabe von ca. 680 ml Wasser wurde das Porphyrin ausgefällt und nach 1 h abzentrifugiert. Nach Waschen mit Methanol, erneutem Zentrifugieren und Trocknen, kristallisierte man das Porphyrin aus DMF um, wobei für 10 mg Substanz 1 ml DMF benötigt wird. Nach dem Auflösen in der Siedehitze ließ man, durch langsames Abkühlen des Heizbades mehrere Stunden lang auskristallisieren.

Ausbeute: 500-600 mg (0.56-0.68 mmol) $\hat{=}$ 40-50%

(Restliche Daten s. 6.1.8.)

6.3. Pyrromethane

6.3.1. 3,3',4,4'-Tetraethoxycarbonylmethyl-5,5'-dimethoxycarbonylpyrromethan (32) ²⁶⁾

2 g (6 mmol) des α -Acetoxymethylpyrrols (22) wurden in 30 ml Ethanol, das 5 ml konz. Salzsäure enthielt, gelöst und 30 Min. unter Rückfluß gekocht. Nach Neutralisation mit 2 M KOH, verdünnte man das Reaktionsgemisch mit 30 ml Wasser und ließ das Produkt im Kühlschrank auskristallisieren. Umkristallisation aus Ethanol/ Wasser.

Ausbeute: 1.1 g (2 mmol) $\hat{=}$ 66%

Schmelzpunkt: 115°C

IR (KBr): 3330, 3285 (NH), 1730, 1710 cm^{-1} (C=O der Ester).

UV (CHCl_3): λ_{max} (ϵ) = 282 nm (29300).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ = 1.26, 1.32 (t,t,6H,6H, CH_3 der Ester an C-3, C-3',C-4 und C-4'), 3.52 (s,4H, CH_2 an C-3 und C-3'), 3.74 (s, 6H, CH_3 der Ester an C-5 und C-5'), 3.84 (s,4H, CH_2 an C-4 und C-4'), 3.88 (s,2H,Methylenbrücke), 4.13, 4.23 (q,q,4H,4H, CH_2 der Ester an C-3,C-3',C-4 und C-4').

MS: m/e = 606 (72%, M^+), 546 (100%, $\text{M} - \text{CH}_3\text{OH} - \text{CO}$), 532 (88%, $\text{M} - \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} - \text{CO}$), 458 (75%, 532- $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} - \text{CO}$), 371 (99%, 458- $\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$).

$\text{C}_{29}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_{12}$	(606.60)	Ber.	C 57.42	H 6.31	N 4.62
		Gef.	C 57.31	H 6.43	N 4.60

6.3.2. 5,5'-Dimethoxycarbonyl-3,3',4,4'-tetramethoxycarbonylmethylpyrromethan (33)

Methode A ²⁷⁾: 1 g des Acetoxymethylpyrrols (22) wurde in 12 ml Eisessig und 3 ml Wasser 2 h unter Rückfluß gekocht. Nach Hinzufügen von 50 ml Wasser ließ man in der Kälte auskristallisieren, worauf der Niederschlag abgesaugt und getrocknet wurde.

Ausbeute: 60 mg (0.1 mmol) $\hat{=}$ 7%

Methode B: 1.42 g (4.2 mmol) des Acetoxymethylpyrrols (22)

wurden in 100 ml absolutem Methanol und 5 ml Schwefelsäure gelöst und unter gelegentlichem umschütteln 7 Tage stehen lassen. Nach der Aufarbeitung (s. 6.1.8. Methode A) wurde das Produkt aus der Chloroformlösung durch Zugabe von Ether ausgefällt, abgesaugt und getrocknet.

Ausbeute: 470 mg (0.85 mmol) $\hat{=}$ 41%

Schmelzpunkt: 151°C

IR (KBr): 3330, 3300 (NH), 1735, 1705 cm^{-1} (C=O der Ester).

UV (CHCl₃): λ_{max} (ϵ) = 281 nm (27200).

¹H-NMR (CDCl₃): δ = 3.52 (s, 4H, CH₂ an C-3 und C-3'), 3.64 (s, 6H, CH₃ der Ester an C-3 und C-3'), 3.74 (s, 6H, CH₃ der Ester an C-5 und C-5'), 3.75 (s, 6H, CH₃ der Ester an C-4 und C-4'), 3.83 (s, 4H, CH₂ an C-4 und C-4'), 3.84 (s, 2H, Methylenbrücke), 10.14 ppm (2H, NH-Pyrrol).

MS: m/e = 550 (55%, M⁺), 518 (15%, M - CH₃OH), 490 (100%, 518 - CO), 430 (55%, 490 - CH₃OH - CO), 357 (61%, 430 - CH₂COOCH₃).

C ₂₅ H ₃₀ N ₂ O ₁₂	(550.49)	Ber. C 54.54	H 5.49	N 5.09
		Gef. C 54.15	H 5.60	N 4.99

6.3.3. Versuchte Darstellung von 5,5'-Dibenzylloxycarbonyl-3,3',4,4'-tetramethoxycarbonylmethylpyrromethan (34)²⁷⁾

0.85 g (2 mmol) des Acetoxymethylpyrrols (26) wurden in 14 ml Eisessig, der 20 proz. Wasser enthielt, gelöst und 1 h unter Rückfluß gekocht. Nach Abziehen des Lösungsmittels trocknete man den Rückstand und kristallisierte aus Methanol um.

Wie anhand des MS und des ¹H-NMR-Spektrums zu sehen war, war unter diesen Bedingungen das Pyrromethan (34) nicht entstanden.

6.4. Pyrrromethen

6.4.1. Versuchte Darstellung von 2-Hydroxycarbonyl-3,4-dihydroxycarbonylmethyl-5-methylpyrrol (40)

1 g (3.5 mmol) Pyrrol (10) wurde mit 30 ml Methanol und 20 ml 2 M KOH übergossen und 1 h unter Rückfluß gekocht. Zum Ausfällen des Produktes tropfte man unter Eiskühlung bis zu pH 4 2 M HCl zu, aber auch nach mehreren Stunden zeigte sich kein Niederschlag. Daraufhin wurde die Lösung zur Trockene eingengt und der Rückstand in der nächsten Stufe eingesetzt.

6.4.2. 3,3',4,4'-Tetrahydroxycarbonylmethyl-5,5'-dimethylpyrrromethen (41) ²⁶⁾

Den Rückstand der vorherigen Stufe versetzte man mit 100 ml Ameisensäure und 5 ml 47 proz. HBr. Nach 3 h Kochen unter Rückfluß wurde das Lösungsmittel abgezogen und der Rückstand über P_2O_5 /KOH getrocknet. (Veresterung s.6.4.3.)

6.4.3. 3,3',4,4'-Tetramethoxycarbonylmethyl-5,5'-dimethylpyrrromethen (42)

Der Rückstand der vorherigen Stufe wurde mit 250 ml absolutem Methanol, das 12.5 ml Schwefelsäure enthielt, zur Veresterung angesetzt und 24 h bei Raumtemp. stehengelassen. Nach der Aufarbeitung (s. 6.1.8. Methode A) erhielt man eine leuchtend orange-gelb gefärbte Lösung, die zur Trockene eingengt wurde. Da der Rückstand nicht einheitlich war (DC), wurde er durch Säulenchromatographie gereinigt (Al_2O_3 , Grad IV, Eluierungsmittel: Chloroform/ 1.5proz. Methanol). Erste Fraktion orange, zweite Fraktion gelb. Die gelbe Fraktion war das Produkt (42). Das Lösungsmittel wurde abdestilliert und der Rückstand getrocknet.

Ausbeute: 100 mg (0.2 mmol) $\hat{=}$ 6%

DC (Chloroform/1.5% Methanol auf Al_2O_3): $R_f = 0.8$

ES ($CHCl_3$): $\lambda_{max} = 449$ nm (breit)

ES ($CHCl_3$ /Eisessig 1.1): $\lambda_{max} = 489$ nm (scharf)

MS: m/e= 460 (27%, M⁺), 401 (32%, M- COOCH₃), 355 (50%, ?), 327 (100%, 401- H₃CCOOCH₃).

¹H-NMR (CDCl₃): δ= 2.34 (s, 6H, CH₃ an C-5 und C-5'), 3.48 (s, 4H, CH₂ an C-4 und C-4'), 3.63 (s, 4H, CH₂ an C-3 und C-3'), 3.67 , 3.68 (s, s, 6H, 6H, CH₃ der Estergruppen), 6.80 (1H, Methinproton). Substanz z.T. schon zersetzt.

C₂₃H₂₈N₂O₈ (460.46)

6.5. Dritter Weg zum Porphyrin

6.5.1. 5,5'-Hydroxycarbonyl-3,3',4,4'-hydroxycarbonylmethyl-pyrromethan (43) ⁵⁷⁾

100 mg (0.17 mmol) des Pyrromethan-hexaesters (32) wurde 1 h in 3 ml Methanol und 2 ml 2M KOH unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen verdünnte man mit 10 ml Wasser und fällte das Produkt durch Zutropfen von 2M HCl (pH=5). Nach Absaugen und Trocknen wurde die Substanz ohne weitere Reinigung in der nächsten Stufe eingesetzt.

Ausbeute: 70 mg (0.15 mmol) $\hat{=}$ 91%

Schmelzpunkt: 138°C (Zersetzung)

MS: m/e= (Molpik fehlt) 246 (25%, M- 5x CO₂), 202 (100%, M- 6x CO₂).

C₁₉H₁₈N₂O₁₂ (466.36)

Die unter den Nummern 6.3.1. und 6.5.1. aufgeführten Stufen wurden ohne Aufarbeitung hintereinander durchgeführt.

Ausbeute: 70%

6.5.2. 1.2.3.4.5.6.7.8- Oктаessigsäureporphyrin (4) ²⁶⁾

50 mg (0.1 mmol) des Hexacarbonsäurepyrromethans (43) kochte man, nach Versetzen mit 12 ml Ameisensäure und 1 ml 47 proz. HBr, 2 h unter Rückfluß. Nach Abziehen des Lösungsmittels trocknete man den Rückstand über P₂O₅/ KOH.

6.5.3. 1.2.3.4.5.6.7.8-Oктаessigsäureporphyrin-oktamethylester (25)

Die freie Säure (4) wurde in 30 ml Methanol und 2 ml Schwefelsäure verestert. Aufarbeitung nach 24 h (s. 6.1.8 Methode A). Die getrocknete Substanz (13 mg) kristallisierte man aus 1.3 ml DMF um.

Ausbeute: 7 mg (0.008 mmol) $\hat{=}$ 10% bezogen auf (33)

Spektren s. unter 6.1.8.

6.6. Versuche zur Reaktivität des Oktaessigsäureporphyrin-
oktamethylesters (OESP-OMeE) (25)

6.6.1. Zinkkomplex des OESP-OMeE (45)

Methode A ³¹⁾: 200 mg (0.23 mmol) OESP-OMeE wurden in siedendem Chloroform gelöst und mit 400 mg (2.2 mmol) in Methanol gelöstem Zinkacetat versetzt, 15 Min. unter Rückfluß gekocht und nach elektronenspektroskopischer Überprüfung der Vollständigkeit mit Methanol ausgefällt.

Ausbeute: 186 mg (0.2 mmol) $\hat{=}$ 85%

Methode B ³²⁾: 109 mg (0.12 mmol) OESP-OMeE wurden in 10,9 ml DMF in der Siedehitze gelöst und nach Zugabe von 28 mg (0.13 mmol) Zinkacetat 30 Min. unter Rückfluß gekocht. Im Gegensatz zur freien Base kristallisierte der Zinkkomplex des Porphyrins beim Abkühlen der Lösung nicht aus. Nach Zusatz von 20 ml Methanol zur 80°C warmen Lösung erhielt man nach dem Abkühlen blutrote, nadelförmige Kristalle.

Ausbeute: 102.5 mg (0.11 mmol) $\hat{=}$ 88%

Schmelzpunkt > 350°C

IR (KBr): 1730 cm^{-1} (C=O der Estergruppen).

ES (CHCl_3): λ_{max} (ϵ) = 578 (7750), 543.5 (12360), 501 Schulter (870), 415 (299070), 393 nm Schulter (35160).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): δ = 3.81 (s, 24H, CH_3 der Ester), 5.18 (s, 16H, CH_2 der Seitenketten), 10.16 ppm (s, 4H, Methinprotonen).

MS: m/e = 947 (100%, M^+), 889 (44%, $\text{M} - \text{COOCH}_3 + \text{H}$).

$\text{C}_{44}\text{H}_{44}\text{O}_{16}\text{N}_4\text{Zn}$	(950.18)	Ber. C 55.61	H 4.67	N 5.90
		Gef. C 54.92	H 4.65	N 5.97

6.6.2. Versuch der Bromierung des OEsP-OMeE (25)

a) OEsP-OMeE + NBS³³⁾: 13 mg ($1.5 \cdot 10^{-5}$ mol) OEsP-OMeE wurden in 40 ml Chloroform gelöst (nicht löslich in CCl_4). Unter Inertgas (N_2) wurde die Lösung bis zum Rückfluß erhitzt. Nach Zugabe von 3 mg ($1.7 \cdot 10^{-5}$ mol) NBS erhitzte man das Reaktionsgemisch noch 30 Min., worauf das Porphyrin durch Zugabe von Methanol ausgefällt wurde.

Das DC (CHCl_3 / 4% CH_3OH) vom Reaktionsgemisch zeigte nur eine Substanz. $R_f = 0.8$

MS: Spektrum des Eduktes.

Auch durch Zugabe einiger Kristalle Azobisisobutyronitril ließ sich kein Bromierungsprodukt erhalten.

b) OEsP-OMeE + Br_2 : 10 mg ($1 \cdot 10^{-5}$ mol) OEsP-OMeE löste man in 30 ml siedendem Chloroform. Zu dieser Lösung gab man 0.5 ml einer Lösung von 0.3 ml Brom in 500 ml Chloroform ($= 2 \cdot 10^{-5}$ mol) und kochte das Reaktionsgemisch 1.5 h unter Rückfluß und bestrahlte mit einer Photolampe. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert.

ES der Reaktionslösung: λ_{max} (E) = 608 (0.043), 585 Schulter (0.062), 568 (0.1375), 435 (0.931), 395 nm (0.788).

ES des Rückstandes in Eisessig: λ_{max} (E) = 574 (0.095), 538 (0.135), 500 Schulter (0.024), 411 (2.975), 390 nm Schulter (0.425).

Wird die Reaktionslösung dagegen mit NaHCO_3 -haltigem Wasser ausgeschüttelt, so zeigt das Elektronenspektrum der Chloroformphase die Banden des Eduktes (s. 6.1.8.).

c) $\text{Zn-OEsP-OMeE} + \text{NBS}$: Bei der quantitativen Titration einer Porphyrin- Zinkkomplex-Lösung (Versuch der Radikalerzeugung) war festgestellt worden, daß sich nach Zugabe eines 60fachen Überschusses an NBS das ES ändert: 50 mg ($5 \cdot 10^{-5}$ mol) Zn-OEsP-OMeE (45) gelöst in 100 ml Chloroform wurden mit einer Lösung von 191.3 mg ($1.1 \cdot 10^{-3}$ mol) NBS in 10 ml Methanol versetzt und 12 h im Dunkeln stehen lassen. Nach Abziehen des Lösungsmittels sah der Rückstand grün aus. Er wurde durch Säulenchromatographie (an Al_2O_3 Grad IV mit Chloroform) fraktioniert, aber in keiner der drei Fraktionen konnte im MS ein Bromierungsprodukt nachgewiesen werden.

6.6.3. Versuch der Erzeugung des Anions

3 mg ($3.4 \cdot 10^{-6}$ mol) Zn-OESP-OMeE(45) wurden scharf getrocknet und unter Inertgas (N_2) mit 50 ml THF versetzt. Nach Zugabe von 0.2 ml einer 1 M Lithiumdiisopropylamid-Lösung ⁵⁸⁾ in THF ($\hat{=}$ $2 \cdot 10^{-4}$ mol) erhielt man eine grüne Lösung.

ES: $\lambda_{\max}$ (E) = 738 (0.003), 576 (0.0295), 542 (0.0375), 425 (0.415), 412 nm (0.370) (s. S. 26).

Zum Abfangen des Anions wurden 0.5 ml ($8 \cdot 10^{-3}$ mol) Methyljodid zugegeben, worauf die Lösung wieder rot wurde. Durch Einengen der Reaktionslösung und Zugabe von Methanol fällte man das Porphyrin aus. Im Massenspektrum konnten aber keine größeren Massen als die der Ausgangsverbindung nachgewiesen werden.

6.6.4.1. Radikalerzeugung von Zn-OESP-OMeE (45)

a) vom Ester: Eine ungefähr $2 \cdot 10^{-3}$ molare Lösung des Zn-OESP-OMeE(45) in Chloroform wurde in der Meßkapillare mit 2 Tropfen einer $2 \cdot 10^{-2}$ M EisenIII-perchlorat-Lösung (in Methanol) versetzt. Das ESR-Spektrum der dabei gebildeten π -Radikale wurde mit einem B-ER 414s ESR-Gerät der Fa. Bruker im X-Band mit folgenden Einstelldaten bei Raumtemp. aufgenommen: Mikrowellenleistung 16 dB, Mikrowellenfrequenz 9.52 GHz, Modulatorfrequenz 100 kHz, Feldmodulation 12.5 G.

Es wurde ein Singulett bei $g=2.0033$ (Linienbreite 3.6 G) erhalten.

ES ($c=3 \cdot 10^{-5}$ mol/l in $CHCl_3$): $\lambda_{\max}$ (E) = 670 (0.14), 578 (0.15), 543 nm (0.215).

6.6.4.2. Versuchte Radikalerzeugung von Zn-OESP (49)

a) Eine ungefähr $1 \cdot 10^{-3}$ molare Lösung des Zn-OESP (49) in dest. Wasser (pH=7) wurde in einer Meßkapillare mit einem Tropfen einer $1 \cdot 10^{-2}$ M EisenIII-perchlorat-Lösung (in H_2O) versetzt. Von der Lösung wurde kein ESR-Signal erhalten.

b) In einer zu a) analogen Weise wurde 49 mit wenig NBS in fester Form versetzt. Die erhaltene Lösung zeigte kein ESR-Signal.

6.7. Vorversuche und erste Untersuchungen über das Verhalten von Oktaessigsäureporphyrin (4) in Mehrphasensystemen

6.7.1. Hydrolyse des Oktaessigsäureporphyrin-oktamethyl-esters (25) und seines Zinkkomplexes (45)

a) freie Base: 500 mg (0,56 mmol) OEsP-OMeE (25) wurden 48 h in 2M KOH unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen fällte man das Porphyrin (4) durch Zutropfen von 2M Salzsäure aus. Der rot-braune Niederschlag wurde durch Zentrifugation abgetrennt, mit Methanol gewaschen und bei 50°C i. Vak. getrocknet.

Ausbeute: 428 mg (0,55 mmol) $\hat{=}$ 98%

IR (KBr): 3430 (OH der Säuregruppen), 3300 (NH), 1735 und 1705 cm^{-1} (C=O der Säuregruppen).

ES (0.01 N NaOH): λ_{max} (ϵ) = 614 (3600), 562 (6700), 538 (8400), 503 (10800), 398 (177500), 218 nm (14500).

MS m/e = 422 (100%, M- 8 CO₂), 211 (10%, M⁺⁺).

b) Zinkkomplex: 99 mg ($1 \cdot 10^{-4}$ mol) Zn-OEsP-OMeE (45) wurden 4 h in 2M KOH unter Rückfluß gekocht. Nach dem Abkühlen fällte man das Produkt durch Zugabe von 2M HCl bis zu pH=3. Der sehr feine Niederschlag wurde durch Zentrifugation abgetrennt, mit Methanol gewaschen und i. Vak. über P₂O₅/KOH getrocknet.

Ausbeute: 77 mg ($9 \cdot 10^{-5}$ mol) $\hat{=}$ 90%

ES (0.01 N NaOH): λ_{max} (ϵ) = 576 α -Bande (13200), 540 β -Bande (16400), 504 Schulter (2400), 409 nm Soret-Bande (301400).

MS: m/e = 484 (100%, M- 8 CO₂), 242 (19%, M⁺⁺).

6.7.2. Oktaessigsäureporphyrin (OEsP) (4) und sein Zinkkomplex (49) in Pufferlösungen von verschiedenen pH-Werten

a) Zinkkomplex

Herstellung der Stammlösung: 1.9 mg Zn-OEsP (49) löste man in 10 ml Wasser. Die Konzentration der Lösung berechnet sich daraus zu $2.27 \cdot 10^{-4}$ mol/l.

Von der Stammlösung wurde jeweils ein Milliliter abgenommen und mit 9 ml Pufferlösung von pH=3,5,6,7,9 und 12 verdünnt (vgl. S. 81). Zu Vergleichszwecken wurde auch 1 ml der Stammlösung mit 9 ml Wasser verdünnt.

Es wurden jeweils drei Elektronenspektren von jeder Lösung aufgenommen und zwar sofort nach dem Zusammengeben, nach 24 h und nach zehn Tagen. Die Daten der Spektren sind der Tabelle 2 zu entnehmen (S. 80).

b) Oktaessigsäureporphyrin

Herstellung der Stammlösung: 50 ml dest. Wasser wurden mit 1 Tropfen 2 M KOH alkalisiert (pH 8.5). Nach Zugabe von ca. 6 mg OEsP (4) kochte man das Gemisch, bis das Porphyrin in Lösung gegangen war (ca. 1 h). Von der verdünnten Lösung (0.2 ml auf 3 ml Wasser) wurde ein ES angefertigt, um daraus die Konzentration berechnen zu können.

ES (H_2O ; pH=9): λ_{max} (E) = 613 (0.049), 561 (0.089), 538 (0.122), 502 (0.150), 398 nm (2.527).

Mit einem ϵ -Wert von 177000 für die Soret-Bande berechnet sich daraus die Konzentration für die verdünnte Lösung zu $1.4 \cdot 10^{-5}$ M und für die Stammlösung zu $2 \cdot 10^{-4}$ M.

Von dieser Stammlösung wurden jeweils 0.5 ml mit 9.5 ml auf pH=3,5,6,7,9 und 12 eingestellte Pufferlösung (vgl. S. 81) verdünnt. Zum Vergleich verdünnte man eine Probe wiederum mit Wasser. Es wurden jeweils drei Elektronenspektren von jeder Lösung aufgenommen und zwar nach dem Zusammengeben, nach 24 h und nach zehn Tagen. Die Spektren sind der Tabelle 3 (S. 82) zu entnehmen.

Tabelle 2 : Daten der Elektronenspektren von Zn-OEsP (45) in Pufferlösungen bei verschiedenen pH-Werten (s. Abb. 22)
(1. Zeile: $\lambda_{\max}$ -Werte in nm, 2. Zeile: Extinktion-Werte)

a) nach dem Zusammengeben gemessen		α -Bande	β -Bande	Soret-B.	
pH=3 ¹⁾	595 (0.327)	S 583 (0.205)	547 (0.257)	—	387 (1.060)
pH=5 ²⁾	594 (0.228)	580 (0.181)	543 (0.258)	409 (2.930)	387 (1.700)
dest. H ₂ O	593 (0.168)	578 (0.189)	541 (0.280)	? >4	388 (1.670)
pH=6 ³⁾	S 607 (0.015)	575 (0.340)	540 (0.442)	S 500 (0.062)	? >4
pH=7 ⁴⁾	S 610 (0.015)	575 (0.325)	540 (0.417)	S 500 (0.060)	? >4
pH=9 ⁵⁾	S 610 (0.015)	575 (0.337)	540 (0.421)	S 500 (0.065)	? >4
pH=12 ⁶⁾	S 610 (0.017)	575 (0.337)	540 (0.421)	S 500 (0.058)	? >4
b) nach 24 h					
pH=3 ¹⁾	595 (0.026)		547 (0.019)		387 (0.078)
pH=5 ²⁾	596 (0.095)	578 (0.093)	542 (0.140)	409 (1.900)	388 (0.740)
dest. H ₂ O	594 (0.098)	578 (0.234)	541 (0.338)	? >4	390 (1.485)
pH=6 ³⁾	S 607 (0.022)	575 (0.325)	540 (0.422)	S 500 (0.065)	? >4
pH=7 ⁴⁾	S 610 (0.018)	575 (0.320)	540 (0.409)	S 500 (0.066)	? >4
pH=9 ⁵⁾	S 610 (0.015)	575 (0.342)	540 (0.418)	S 500 (0.064)	? >4
pH=12 ⁶⁾	S 610 (0.018)	575 (0.325)	540 (0.407)	S 500 (0.056)	? >4

Fortsetzung: c) nach 10 Tagen s. nächste Seite

Fortsetzung der Tabelle 2

c) nach zehn Tagen

	α -Bande	β -Bande	Soret-B.
pH=3 ¹⁾	Keine Extinktion (Porphyrin quantitativ ausgefallen)		
pH=5 ²⁾	S 610 (0.022)	575 (0.063)	541 (0.087)
			S 500 (0.031)
			409 (1.775)
			S 390 (0.500)
dest. H ₂ O	597 (0.112)	576 (0.210)	541 (0.307)
			S 500 (0.067)
			? >4
			S 390 (1.210)
pH=6 ³⁾	605 (0.045)	575 (0.294)	540 (0.375)
			S 500 (0.082)
			? >4
			S 390 (1.400)
pH=7 ⁴⁾	605 (0.028)	575 (0.304)	540 (0.386)
			S 500 (0.066)
			? >4
			S 390 (1.260)
pH=9 ⁵⁾	S 610 (0.015)	575 (0.342)	540 (0.418)
			S 500 (0.063)
			? >4
			S 390 (1.390)
pH=12 ⁶⁾	S 610 (0.015)	575 (0.314)	540 (0.393)
			S 500 (0.053)
			? >4
			S 390 (1.360)

Pufferzusammensetzung:

Die Lösungen der Fa. Merck wurden auf 0,5 l aufgefüllt.

- 1) pH=3 Citrat-Salzsäure, 2) pH=5 Citrat-Natronlauge,
 3) pH=6 Citrat-Natronlauge, 4) pH=7 Phosphaft,
 5) pH=9 Borsäure/Kaliumchlorid-Natronlauge, 6) pH=12 Phospat-Natronlauge

Anzeichen für Zersetzung finden sich an der längerwelligen Flanke der Soret-Bande, die in der ungepufferten Lösung am intensivsten ist:

	max	Extinktion
H ₂ O	S 428	(0.985)
pH=6	S 430	(0.560)
pH=7	S 450	(0.230)
pH=9	S 450	(0.180)
pH=12	-	-

Tabelle 3 : Daten der Elektronenspektren von Oktaessigsäureporphyrin (4) in Pufferlösungen bei verschiedenen pH-Werten (s. Abb.23) (1. Zeile λ_{max} -Werte in nm, 2. Zeile: Extinktionswerte)

a) nach dem Zusammengeben gemessen					Soret-Banden	
	I	II	III	IV		
pH=3 ¹⁾	640 (0.021)	580 (0.033)	550 (0.036)	512 (0.051)		376 (0.502)
pH=5 ²⁾	S 610 (0.015)	594 (0.030)	555 (0.093)	504 (0.040)	407.5 (2.290)	
dest. H ₂ O	612.5 (0.026)	561 (0.070)	538 (0.081)	502 (0.071)	460 (0.055)	400 (1.470)
pH=6 ³⁾	613 (0.027)	561 (0.073)	538 (0.076)	502 (0.077)		400 (1.636)
pH=7 ⁴⁾	613 (0.032)	561 (0.062)	538 (0.078)	502 (0.096)		399 (1.665)
pH=9 ⁵⁾	613 (0.032)	562 (0.058)	538 (0.079)	502 (0.102)		400 (1.700)
pH=12 ⁶⁾	613 (0.036)	562 (0.061)	538 (0.080)	502 (0.104)		399 (1.690)
b) nach 24 h						
pH=3 ¹⁾	640 (0.027)	580 (0.037)	S 550 (0.040)	512 (0.057)		376 (0.422)
pH=5 ²⁾	S 610 (0.015)	594 (0.030)	555 (0.093)	504 (0.040)	407.5 (2.290)	
dest. H ₂ O	612.5 (0.016)	558 (0.074)	540 (0.080)	503 (0.054)	461 (0.186)	S 407.5 (1.000) 401 (1.040) S 375 (0.530)

Fortsetzung der Tabelle 3

I		II		III		IV		Soret-Banden	
pH=6	3)	613 (0.027)	561 (0.073)	538 (0.076)	502 (0.077)	400 (1.636)			
pH=7	4)	613 (0.030)	561 (0.062)	538 (0.077)	502 (0.091)	462 (0.044)	400 (1.580)		
pH=9	5)	613 (0.026)	562 (0.060)	538 (0.079)	502 (0.087)	462 (0.126)	400 (1.376)		
pH=12	6)	613 (0.034)	562 (0.060)	538 (0.080)	502 (0.101)		400 (1.670)		
c) nach zehn Tagen									
pH=3	1)	640 (0.008)	585 (0.008)	S 550 (0.009)	S 520 (0.013)			378 (0.112)	
pH=5	2)	S 610 (0.016)	594 (0.033)	555 (0.095)	504 (0.040)	407 (1.300)			
dest. H ₂ O		612.5 (0.020)	558 (0.076)	539 (0.087)	502 (0.050)	460 (0.215)	S 407 (0.800)	S 375 (0.520)	
pH=6	3)	613 (0.027)	561 (0.075)	538 (0.075)	502 (0.074)		400 (1.600)		
pH=7	4)	613 (0.029)	560 (0.067)	538 (0.079)	502 (0.078)	460 (0.208)	399 (1.110)	S 375 (0.595)	
pH=9	5)	613 (0.026)	560 (0.060)	538 (0.081)	502 (0.084)	461 (0.158)	399 (1.270)	S 375 (0.660)	
pH=12	6)	613 (0.035)	561 (0.060)	538 (0.080)	502 (0.100)		399 (1.620)	S 375 (0.660)	

1 bis 6: Pufferzusammensetzung s. S. 81

6.7.3. Phasentransfer

3 ml der OEsP-Stammlösung (s. 6.7.2.b) wurden mit 1 ml einer Lösung von 300 mg Dimethyldidodecylammoniumbromid (47) in 3 ml Methanol versetzt. Die Suspension versetzte man mit 3 ml Chloroform und schüttelte kräftig durch, worauf eine Emulsion entstand. Nach sechs Tagen hatten sich die Phasen wieder getrennt und wie anhand des ES ermittelt wurde, war in der unpolaren Phase viermal so viel Porphyrin gelöst, wie in der polaren.

ES der Porphyrinbanden im sichtbaren Bereich (1. Zeile $\lambda_{\max}$ in nm, 2. Zeile Extinktionswerte):

	I	II	III	IV
CHCl ₃ -Phase	619 0.42	566 0.92	538 1.29	503 1.54
H ₂ O-Phase	617 0.10	564 0.19	537 0.28	502 0.37

Daraus ergibt sich ein Verhältnis von ungefähr 4:1 zu Gunsten des in der Chloroformphase gelösten Porphyrins.

6.7.4. Titration von OEsP (4) in micellarer Lösung

5 ml der OEsP-Stammlösung (s. 6.7.2.b) wurden mit 5 ml einer $1.4 \cdot 10^{-4}$ M wäßrigen Natriumlaurylsulfat-Lösung ⁴⁵⁾ versetzt und 2 h gerührt. 3 ml dieser Lösung gab man in eine Küvette (Referenzlösung: $0.7 \cdot 10^{-4}$ M Natriumlaurylsulfat) und nahm Elektronenspektren nach Zugabe von jeweils 20 μ l 0.01 N HCl auf (Die Zugabe der Mikrolitermengen erfolgte mit einer 20 μ l Capilette der Fa. Labora Mannheim, Fehler < 1%).

Es ergibt sich eine Kurvenschar mit zwei isosbestischen Punkten bei 603 und 542 nm (s. Abb. 24, S. 37).

1. Ausgangsspektrum: $\lambda_{\max}$ (E) = 612 (0.310), 561 (0.660), 538 (0.800), 502 nm (0.920).
2. nach Zugabe von 80 μ l 0.01 N HCl: $\lambda_{\max}$ (E) = 612 Schulter (0.10), 593 (0.34), 553 (0.98), 505 nm (0.31).

Bei weiterer Zugabe von HCl fällt das Porphyrin aus.

3. Spektrum nach Zugabe von insgesamt 140 μ l 0.01 N HCl:

$\lambda_{\max}$ (E) = 640 (0.18), 580 (0.35), 557 Schulter (0.38), 505 nm (0.51).

Die Reversibilität wurde durch Zugabe eines Tropfens 2 M KOH überprüft:

$\lambda_{\max}$ (E) = 613 (0.276), 562 (0.580), 538 (0.700), 502 nm (0.875).

6.7.5. Titration von Oktaessigsäureporphyrin (4) in Vesikellösung mit positiv geladenen Kopfgruppen

a) Versuch mit Dimethyldidodecylammoniumbromid (46)

200 mg 46 löste man in 2 ml Chloroform, das durch Überleiten von Stickstoff wieder verdunstet wurde⁵⁹⁾. Auf den Substanzfilm gab man 10 ml dest. Wasser und brachte ihn durch Ultrabeschallung in Lösung (15 Min. Stufe 3, 15 Min. Stufe 4 bei 50°C). 5 ml der Vesikellösung wurden zu 5 ml der Porphyrin-Stammlösung gegeben, worauf das Porphyrin ausfiel. Der pH-Wert der Lösung betrug 2.

b) Versuch mit 3,5-Dicarbo-n-hexadecyloxyphenyltrimethylammoniumjodid (47)

40 mg 47 wurden in Methylenchlorid gelöst und durch Verdunsten des Lösungsmittels als Folie erhalten. Die durch Beschallung (15 Min. Stufe 2, 30 Min. Stufe 4 bei 50°C) mit 5 ml dest. Wasser erhaltene $1 \cdot 10^{-3}$ M Vesikellösung versetzte man mit 5 ml der Porphyrin-Stammlösung (6.7.2.b). Ein roter Niederschlag fiel aus (pH-unverändert), der durch erneutes Beschallen (30 Min. Stufe 4 bei 50°C) wieder in Lösung gebracht werden konnte. Die Titration der Vesikellösung wurde mittels ES verfolgt:

Ausgangsspektrum: $\lambda_{\max}$ (E) = 617 (0.100), 566 (0.245), 540 (0.278), 504 nm (0.335).

Bei der Zugabe von 0.01 N HCl werden die Intensitäten der Banden geringer und die Maxima verschieben sich. Nach Zugabe von 400 μ l 0.01 N HCl sind die Daten wie folgt:

$\lambda_{\max}$ (E) = 623 (0.06), 570 (0.17), 540 (0.19), 506 nm (0.28).

6.7.6.1. Titration von Oktaessigsäureporphyrin (4) in Vesikellösung mit negativen Kopfgruppen

36,3 mg des Natriumsalzes des Sulfobernsteinsäureditetradecylesters (48) wurden in wenig Methanol gelöst, das durch Hitze (Badtemp. 100°C) wieder vertrieben wurde. Die zurückbleibende Folie beschallte man zusammen mit 5 ml dest. Wasser, wodurch man eine $1.2 \cdot 10^{-2}$ M Vesikellösung erhielt.

1.5 ml der Vesikellösung wurden in einer Küvette mit 1.5 ml der Porphyrin-Stammlösung (s.6.7.2.b) durchmischt. Die erhaltene Lösung titrierte man mit jeweils 20 µl 0.01 N HCl (s. Abb. 26, S. 40). Im folgenden sind die Daten einiger ausgewählter Elektronenspektren aufgeführt:

a) Ausgangsspektrum: $\lambda_{\max}$ (E)= 613 (0.250), 561 (0.695), 538 (0.717), 502 nm (0.743).

Soret-Bande in 1 mm Küvette gemessen: 400 nm (1.34)

b) nach Zugabe von 80 µl 0.01 N HCl:

$\lambda_{\max}$ (E)= 594 (0.317), 554 (0.905), 505 (0.330) und Soret-Bande (1 mm Küvette): 408 nm (1.89).

c) nach Zugabe von 160 µl 0.01 N HCl:

$\lambda_{\max}$ (E)= 625 (0.250), 568 (0.459), 536 (0.540), 500 (0.840), Soret-Bande (1 mm Küvette): 405 nm (1.175).

Bei der Rücktitration mit 0.01 N NaOH werden alle Zwischenstufen erneut durchlaufen:

d) nach Zugabe von 100 µl 0.01 N NaOH:

$\lambda_{\max}$ (E)= 594 (0.272), 554 (0.800), 507 (0.289), Soret-Bande (1 mm Küvette): 408 nm (1.68).

e) nach Zugabe von 280 µl 0.01 N NaOH:

$\lambda_{\max}$ (E)= 613 (0.247), 562 (0.558), 538 (0.684), 502 (0.714), Soret-Bande (1 mm Küvette): 400 nm (1.15).

Der Kurvenverlauf ist sowohl mit derselben Lösung als auch mit neu hergestellter Mischung aus OEsP- und Vesikellösung reproduzierbar.

6.7.62. Versuch des Nachweises der Membranlöslichkeit des Porphyrins durch Chromatographie an Sephadex

Herstellung der Säule: 2 g Sephadex G 50 ließ man ca. 12 h in 60 g Pufferlösung oder dest. Wasser quellen. Nach Einfüllen in eine Säule mit ca. 1 cm Innendurchmesser betrug die Füllhöhe 22.3 cm.

a) 10 mg ($2 \cdot 10^{-5}$ mol) der vesikelbildenden Substanz (48) wurden mit 5 ml OEsP-Lösung (pH=7, s.6.7.2.b) beschallt (15 Min. Stufe 2, 30 Min. Stufe 4 bei 45°C). Die Lösung war klar, jedoch fiel die vesikelbildende Substanz nach kurzer Zeit wieder aus (ca. 30 Min.). Auf der Säule blieb sie am Kopf hängen. Die gleichen Beobachtungen machte man bei der Verwendung der auf pH=5 gepufferten Porphyrinlösung.

b) 1 ml der porphyrinhaltigen Vesikellösung aus Substanz (48) (s. 6.7.6.) wurde auf die Säule gegeben und mit dest. Wasser eluiert.

Vesikelfraktion: 5.3 - 11.6 ml

Porphyrinfraktion: 12.5 - 15.9 ml

Die farblose Vesikelsubstanz wurde in den einzelnen Fraktionen durch Zugabe von 2-3 Kristallen KCl nachgewiesen (Ausfällung).

c) 3 ml der porphyrinhaltigen Vesikellösung aus Substanz (48) (s. 6.7.6.) wurde unter elektronenspektroskopischer Verfolgung bis zur erneuten Vierbandigkeit titriert (240 μ l 0.01 N HCl).
 $\lambda_{\max}$ (E) = 624 (0.167), 561 (0.440), 538 (0.554), 501 nm (0.882).

1 ml des Küvetteninhalts (pH=5) gab man auf die Säule, die vorher mit auf pH=5 angesäuertem Wasser gewaschen worden war. Mit dest. Wasser von diesem pH-Wert wurde auch eluiert. Die "rote" Fraktion (Porphyrin) und die, die mit KCl einen Niederschlag gibt (Vesikel), kamen diesmal zusammen: 8.5 - 10.5 ml.

Das Elektronenspektrum der Fraktion war nicht das gleiche wie das der Lösung, die auf die Säule gegeben worden war:

$\lambda_{\max}$ (E) = 642 (0.061), 581 (0.104), 557 Schulter (0.110), 513 (0.146), 414 (0.883), 372.5 nm (1.43).

Das entspricht dem Sepktrum des assoziierten Porphyrins kurz vor der Ausfällung.

6.7.7. Versuch der Anreicherung des Porphyrins (4) im Innenvolumen der Vesikel

72.7 mg des Natriumsalzes des Sulfobernsteinsäureditetradecylesters (48) wurden in 10 ml dest. Wasser (pH=10 durch Natronlauge) mittels Ultraschall zur Bildung von Vesikeln gebracht (15 Min. bei Stufe 3, 15 Min. Stufe 4.5 bei 60°C). Der pH-Wert der $1.2 \cdot 10^{-2}$ M Vesikellösung betrug nach dem Beschallen 8.5 .

a) 1 ml der Vesikellösung mischte man mit einer $2 \cdot 10^{-4}$ M Porphyrin (4)-Lösung im Verhältnis 1:1. Elektronenspektrum:
 $\lambda_{\max}$ (E)= 613 (0.318), 562 (0.585), 538 (0.764), 502 nm (1.000).

Zu dieser Lösung gab man 40 μ l 0.1 N HCl. Elektronenspektrum:
 $\lambda_{\max}$ (E)= 625 (0.318), 570 (0.463), 536 (0.552), 500 nm (0.965).

Als nächstes wurde 1 ml 0.01 N NaOH in die Küvette gegeben. ES:
 $\lambda_{\max}$ (E)= 613 (0.155), 562 (0.435), 538 (0.455), 502 nm (0.473).

Zu dieser Lösung gab man 10 μ l einer $5.5 \cdot 10^{-2}$ M Zinkacetat. ES:
 $\lambda_{\max}$ (E)= 576 (0.656), 540 nm (0.852).

Der Zinkkomplex des Porphyrins entstand sofort und quantitativ.

b) wie a), nur daß die Zugaben schneller erfolgten: 30 Sek. nach dem Mischen von Vesikel- und Porphyrinlösung gab man 40 μ l 0.1 N HCl zu und nach weiteren 45 Sek. 1 ml 0.01 N NaOH. Danach wurde das erste Spektrum gemessen:

$\lambda_{\max}$ (E)= 614 (0.202), 562 (0.373), 538 (0.486), 502 nm (0.632).

Zu dieser Lösung gab man ebenfalls 10 μ l $5.5 \cdot 10^{-2}$ M Zinkacetatlösung. Dieses Mal entstand der Zinkkomplex des Porphyrins nicht sofort quantitativ.

$\lambda_{\max}$ (E)= 614 (0.184), 573 Schulter (0.310), 562 (0.360), 539 (0.562), 502 nm (0.518).

Die selbe Lösung zeigte 1.5 h später folgendes Spektrum:

$\lambda_{\max}$ (E): 577 (0.686), 540 nm (0.878).

0.5 ml der Lösung b) (vor der Zinkacetatzugabe) und 0,5 ml der Porphyrinlösung wurden gemischt, auf eine Sephadex-Säule (22 cm Füllhöhe, Durchmesser 1 cm) gegeben und mit Wasser (pH=8.5 durch Zugabe von Natronlauge) eluiert. Vesikel und Porphyrin ließen

sich unter den gegebenen Bedingungen nicht trennen.
Auch die Chromatographie an Sepharose unter den gleichen Bedingungen führte zu keiner Auftrennung.

7. Literaturverzeichnis

1. H. Beyer, Lehrbuch der org. Chemie, 18. Auflage (1976), S. 621
2. K.M. Smith (Hrsg.), "Porphyrins and Metalloporphyrins" Elsevier, Amsterdam 1975, S.
3. Q.H. Gibson, in "Biological Oxidations" (Hrsg. T.P. Singer), Interscience, 1968
4. A. Lehninger, "Biochemie", Verlag Chemie, Weinheim, New York (1977)
5. E. Buddecke, "Grundriß der Biochemie", W.d. Gruyter, Berlin, New York (1974)
6. J.-H. Fuhrhop, "Bio-organische Chemie", Thieme, Stuttgart (1982), S. 187
- 7a. G. Gregoriadis, N. Engl. J. Med. 295, 704 (1976); Nature 265, 407 (1977)
- 7b. J.H. Fendler, A. Romero, Life sci. 20, 1109 (1977)
8. K. Zeile, Angew. Chem. 66, 729 (1954)
9. B. Frydman, S. Reil, M.E. Despuys, H. Rapoport, J. Am. Chem. Soc. 91, 2338 (1969)
10. W. Franck, A. Rowold, C. Wegner, H.G. Eckert, Philos. Trans. R. Soc. London, Ser.B, 273, 181 (1976)
11. C. Wegner, Dissertation, Münster, 1976
12. A.R. Battersby, E. McDonald, "Biosynthesis of Porphyrins, Chlorins and Corrins", in: "Porphyrins and Metalloporphyrins" (Hrsg. K.M. Smith), Elsevier Scientific Publishing Company Amsterdam - Oxford - New York (1975), Kap. S. 61
13. H.H. Inhoffen, J.-H. Fuhrhop, H. Voigt, H. Brockmann jr., Liebigs Ann. Chem. 695, 133 (1966)
14. F. Gerner (C.H. Boehringer Sohn), D.B.P. 1160841 (1964)
15. Org. Synth. Collective Volume I, S. 10 und 237
16. St.P. Findlay, J. Org. Chem. 22, 1389 (1957)
17. A. McKillop, B.P. Swann, E.C. Tayler J. Am. Chem. Soc. 95, 3340, (1973)
18. G.W. Kenner, K.M. Smith, J.F. Unsworth, J. Chem. Soc. Chem. Comm. 1973, 43

19. G.W. Kenner, J.Rimmer, K.M. Smith, J.S. Unsworth,
J. Chem. Soc. I. (1977), 332
20. B. Franck, Ch. Wegner, G. Bringmann, G. Fels,
Liebigs Ann. Chem. 1980, 253
21. B. Franck, G. Bringmann, Ch. Wegner, U. Spiegel,
Liebigs Ann. Chem. 1980, 263
22. B. Franck, private Mitteilung
23. A.R. Battersby, E. Hunt, E. McDonald, J.B. Paine III,
J. Saunders, J. Chem. Soc. I, 1976, 1008
24. E. Bullock, A.W. Johnson, E. Markham, K.B. Shaw,
J. Chem. Soc., 1958, 1430
25. A.R. Battersby, D.A. Evans, K.H. Gibson, E. McDonald,
L. Nixon, J. Chem. Soc. I, 1973, 1546
26. A.W. Johnson, I.T. Kay, E. Markham, R. Price, K.B. Shaw,
J. Chem. Soc., 1959, 3416
27. A.R. Battersby, A.D. Hamilton, E. McDonald, L. Monbelli,
Oi-Hoong Wong, J. Chem. Soc. I, 1980, 1283
28. A. Gossauer: "Die Chemie der Pyrrole", Springer-Verlag,
Berlin-Heidelberg-New York, 1974, S. 109
29. Lit. 28, S. 59
30. Lit. 28, S. 115
31. J.-H. Fuhrhop, K.M. Smith, "Laboratory Methods" in:
"Porphyrins and Metalloporphyrins" Elsevier, Amsterdam
1975, Kap. 19, S. 757
32. A.D. Adler, F.R. Longo, F. Kampers, J. Kim,
J. Inorg. Nucl. Chem. 32, 2443 (1970)
33. J.H. Boyer, D. Straw, J. Ann. Chem. Soc. 75, 1643 (1953)
34. H. Fischer, B. Bäuml, Liebigs Ann. Chem. 468, 58 (1929)
35. H.F. Ebel: "Die Acidität der CH-Säuren", Thieme-Verlag,
Stuttgart (1969)
36. pK_b von Natriumamid: A.F. Holleman, E. Wiberg, "Lehrbuch
der Anorganischen Chemie", W.d. Gruyter, Berlin 1971, S. 206
37. J.-H. Fuhrhop, D. Mauzerall, J. Ann. Chem. Soc. 90,
3875 (1968)
38. J.-H. Fuhrhop, D. Mauzerall, J. Ann. Chem. Soc. 91,
4174 (1969)
39. J.-H. Fuhrhop, P. Wasser, D. Riesner, D. Mauzerall,
J. Ann. Chem. Soc. 94, 7996 (1972)

40. J. Fajer, D.C. Borg, A. Forman, D. Dolphin, R.H. Felton, J. Am. Chem. Soc. 92, 3451 (1970)
- 41a. H. Fischer, A. Treibs, H. Hellberger, Liebigs Ann. Chem. 466, 243 (1928)
- 41b. H. Gröschel, Dissertation, TU Braunschweig, 1964
42. L.P. Vernon, G.R. Seely, "The Chlorophylls", Academic Press, New York 1966
43. S. Aronoff, J. Phys. Chem. 62, 428 (1958)
44. D. Fritsch, Dissertation, FU Berlin, in Vorbereitung
- 45a. H.C. Powney, D. Addison, Trans. Faraday Soc. 33, 1249 (1937)
- 45b. M.L. Corrin, W.D. Harkins, J. Am. Chem. Soc. 69, 679, (1947)
46. A.Weissler, I. Pecht, M. Anbar, Science 150, 1288 (1965)
A.T. Chapman, J. Am. Chem. Soc. 57, 419 (1935)
47. H.H. David, Dissertation, FU Berlin, in Vorbereitung
48. J.-H. Fuhrhop, K.M. Smith, in: K.M. Smith (Hrsg.)
Porphyrins and Metalloporphyrins, Elsevier, Amsterdam 1975, S. 771
49. J.-H. Fuhrhop, Nachr. Chem. Tech. Lab. 28, 792 (1980)
50. K.Kano, J.H. Fendler, Biochimica et Biophysica Acta, 509, 289 (1978)
51. Th. Lehmann, Dissertation, FU Berlin, in Vorbereitung
- 52a. I. Ito, T. Mitsuzaki, S. Murakami, Jap. Pat. 6914, 932 (1969) b) I. Ito, S. Murakami, K. Tanabe, Yakugaku Zasshi 86, 300 (1966)
53. O. Bayer in: Houben-Weyl: Methoden der organischen Chemie Band 7/1, Thieme-Verlag, Stuttgart 1954, S. 355
54. K.M. Smith, G.F. Bisset, J. Org. Chem. 44, 2077 (1979)
55. H. Fischer, H. Friedrich, W. Lamatsch, K. Morgenroth, Liebigs Ann. Chem. 466, 147 (1928)
56. Lit. 2, S.5
57. E.J. Tarlton, S.F. McDonald, E. Baltazzi, J. Am. Chem. Soc. 82, 4389 (1960)
58. H.J. Reich, J.M. Renga, I.L. Reich, J. Am. Chem. Soc. 97, 5434 (1975)

59. I.-M. Tegmo-Larsson, S.E. Braslawsky, St. Culshaw,
R.M. Ellul, C. Nicolau, K. Schaffner,
J. Am. Chem. Soc. 103, 7152 (1981)
60. J.H. Fendler: "Membrane Mimetic Chemistry",
J. Wiley, New York, 1982, S.6

Lebenslauf

Geburt	4. Februar 1953 in Holzhausen/ Kreis Osnabrück Eltern: Alexander Meding, kaufm. Angestellter Dorothea Meding, geb. von Kruedener
Volksschule	Ostern 1959 - 1964 Gemeinschaftsschule Sutthausen
Realschule	Ostern 1964 - 1969 Agnes-Miegel Realschule in Osnabrück
Gymnasium	Ostern 1969 - 1972 Gymnasium "In der Wüste"/Osnabrück
Abitur	Mai 1972
Beginn des Studiums	WS 1972/73 Chemie, Nebenfach: Biochemie
Vordiplom	März 1975
Diplom	November 1978 am Institut für Organische Chemie der FU-Berlin bei Prof. Dr. J.-H. Fuhrhop Titel der Diplomarbeit: "Darstellung und erste Unter- suchungen der Isomeren des Pyridin- bzw. Nicotinamid- monosubstituierten Deuteroporphyrin(IX)dimethylesters"
Beruf	Seit April 1979 Assistententätigkeit am Institut für Organische Chemie der FU-Berlin
Beginn der Promotion	Dezember 1978
Heirat	15. Oktober 1982, den Dipl. Chemiker Dr. Michael Angrick
Kind	2. November 1982 Geburt von Fabian Angrick

Zu guter Letzt möchte ich mich noch herzlich bei Frau
Heidemarie Buchert bedanken, ohne deren Hilfe beim
Ausmerzen der Tippfehler und der Betreuung des Sohnes
diese Arbeit wahrscheinlich heute noch nicht fertig
wäre.

